

ACADEMIE DE MONTPELLIER

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC
(MONTPELLIER II)

T H E S E

présentée à l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc
pour obtenir le grade de Docteur ès Sciences (**SCIENCES NATURELLES**)

MATURATION POSTNATALE DE LA NÉVROGLIE
DANS LE SYSTÈME NERVEUX CENTRAL CHEZ LE RAT .
- Etude radio - autographique dans ses rapports avec la myélinisation -
- Aspects réactionnels -

par

Jean FULCRAND

Soutenue le 20 Octobre 1973 devant la Commission d'Examen.

JURY :	M. R. MARTY,	Professeur à l'Université Montpellier II	Président
	M. G. LYON,	Professeur à l'Université Paris V	} Examineurs
	M. J. D. BAYLE,	Professeur à l'Université Montpellier II	
	M. J. L. CHANAL,	Maître de Conférences à l'Université Montpellier I	

N° d'enregistrement au C.N.R.S. : A.O. 8976

A ma femme,

A mes enfants,

A mes parents,

A tous mes amis,



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548320_0024

ACADEMIE DE MONTPELLIER

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC

(MONTPELLIER II)

T H E S E

présentée à l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc
pour obtenir le grade de Docteur ès Sciences (**SCIENCES NATURELLES**)

MATURATION POSTNATALE DE LA NÉVROGLIE
DANS LE SYSTÈME NERVEUX CENTRAL CHEZ LE RAT .

- Etude radio - autographique dans ses rapports avec la myélinisation -
- Aspects réactionnels -

par

Jean FULCRAND

Soutenue le 20 Octobre 1973 devant la Commission d'Examen.

JURY :	M. R. MARTY,	Professeur à l'Université Montpellier II	Président
	M. G. LYON,	Professeur à l'Université Paris V	} Examineurs
	M. J. D. BAYLE,	Professeur à l'Université Montpellier II	
	M. J. L. CHANAL,	Maître de Conférences à l'Université Montpellier I	



LISTE DES PROFESSEURS
DE L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DU LANGUEDOC

PRESIDENT : J. ROUZAUD

Vice-Présidents : B. CHARLES - G. SAUMADE

Doyens honoraires de l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc :

P. MATHIAS

B. CHARLES

A. CASADEVALL

Professeurs honoraires de l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc :

R. JACQUES

G. DENIZOT

M. MOUSSERON

M. CASTERAS

J. GRANIER

P. CHATELAIN

E. CARRIERE

Ch. BOUHET

A.M. VERGNOUX

E. TURRIERE

J. MOTTE

C. CAUQUIL

J. SALVINIEN

Secrétaire Général : E. SIAU

Professeurs titulaires :

M. J.P. ROIG Physique

Mle O. TUZET Zoologie

M. G. COUCHET Mécanique supérieure

M. J. AVIAS Géologie

M. P. VIELES Chimie

M. R. MAURY (I.P.A.) Droit

M. E. KAHANE Chimie biologique

M. J.J. MOREAU Mécanique ration-
nelle

M. B. CHARLES Mathématiques pures

M. R. JOUTY Physique

M. R. LEGENDRE Zoologie

M. I. ASSENMACHER Physiologie animale

M. B. PISTOULET Physique

M.	Ch. ROUMIEU	Analyse supérieure
M.	J. ROBIN	Physique
M.	A. POTIER	Chimie minérale
M.	R. LAFONT	Physique
M.	R. JACQUIER	Chimie
M.	J. FALGUEIRETTES	Minéralogie
M.	J. REGNIER	Chimie
Mme	J. CHARLES	Mathématiques
M.	P. CAILLON	Physique
M.	J. ROUZAUD	Chimie
M.	Ch. SAUVAGE	Botanique
M.	H. CHRISTOL (E.N.S.I.)	Chimie
Mme	G. VERNET	Biologie animale
M.	L. CECCHI	Physique
M.	H. ANDRILLAT	Astronomie
M.	M. SAVELLI	Physique
M.	M. MATTAUER	Géologie
M.	L. EUZET	Zoologie
M.	C. DELOUPY	Physique
M.	L. GRAMBAST	Botanique
M.	A. BONNET	Botanique
M.	G. LAMATY	Chimie
M.	R. MARTY	Psychophysiologie
Mme	S. ROBIN	Physique
M.	R. CORRIU (I.U.T.)	Chimie
Mme	N. PARIS	Physiologie végétale
M.	J. ZARZYCKI	Sciences des matériaux (Physique du Solide)
M.	S. GROMB	Chimie physique
M.	F. SCHUE	Chimie organique
M.	M. MAURIN	Chimie minérale
M.	P. SABATIER	Mathématiques
M.	L. THALER	Paléontologie
M.	E. GROUBERT	Physique
M.	M. ROUZEYRE	Physique

Professeurs sans chaire :

M.	G. TOURNE	Chimie
M.	J. REMY	Géologie
M.	P. DEMANGEON	Géologie
Mme	H. GUASTALLA	Biologie physico- chimique
M.	R. LENEL	Biologie animale
M.	F. PROUST	Géologie
M.	A. BASSOMPIERRE	Physique
M.	N. ROBY	Mathématiques
M.	R. GAUFRES	Chimie
M.	J. PARIS	Zoologie
M.	G. BOUGNOT	Physique
M.	P. MOLINO	Mathématiques
M.	J. LEGRAND	Physiologie animale
M.	R. JONARD	Botanique
M.	R. CANO (I.U.T.)	Mesures physiques
M.	J.P. FILLARD (I.U.T. Nîmes)	Génie électrique
M.	J.M. MORETTI	Biochimie
M.	J.L. IMBACH	Chimie
M.	H. MATHIEU	E.E.A. Electronique
M.	C. DURANTE	Automatique
M.	L. GIRAL	Chimie organique
M.	M. AMANIEU (Sciences et Techniques)	Hydrologie et ma- riculture
M.	M. DENIZOT	Biologie végétale
M.	B. BRUN	Chimie physique
M.	J.D. BAYLE	Physiologie animale
M.	G. LECOY (I.U.T.)	Génie électrique

Professeurs associés :

M.	E. AKUTOWICZ	Mathématiques
M.	A. MICALI	Mathématiques
M.	C. VAGO	Biologie animale
M.	L. DAUZIER	Physiologie animale

M.	F. WINTERNITZ	Chimie organique
M.	R. SENOUILLET	Economie et gestion
M.	C. MAURIN	Biologie animale
Mme	M. VAN CAMPO	Biologie végétale
M.	P. GALZY	Biochimie
M.	E. VERDIER	Chimie générale
M.	E. SERVAT	Géologie

Maîtres de Conférences :

M.	G. LOUPIAS	Mathématiques
M.	Ch. CASTAING	Mathématiques
M.	R. HAKIM	Mathématiques
Mme	M. HAKIM	Mathématiques
M.	F. HALLE	Biologie végétale
M.	G. MASCHERPA	Chimie
M.	F. LAPSCHER	Mathématiques
M.	J. GARCIA (I.U.T.)	Génie mécanique
M.	L. LASSABATERE (I.U.T.)	Mesures physiques
M.	C. GOUT	Physique
M.	J.P. TRILLES (I.U.T.)	Biologie appliquée
M.	G. BORDURE (I.U.T.)	Génie électrique
M.	Y. PIETRASANTA (E.N.S.I.)	Chimie appliquée
M.	J. CROUZET (Sciences et Techniques)	Biochimie appliquée
M.	A. COMMEYRAS	Chimie organique
M.	J.L. ROBERT (I.U.T. Nîmes)	Génie électrique
M.	P. LOUIS	Géophysique appliquée
Mlle	M. LEVY (I.U.T.)	Chimie
M.	J. LAGARRIGUE (I.U.T.)	Biologie appliquée
M.	Cl. DROGUE (Sciences et Techniques)	Hydrogéologie
M.	P. GENESTE (E.N.S.I.)	Chimie physique appliquée
M.	J. CHEFTEL (Sciences et Techniques)	Biochimie appliquée à l'alimentation
M.	M. AVEROUS (I.U.T. Nîmes)	Génie électrique
M.	B. LEMAIRE (Sciences et Techniques)	Mathématiques appliquées Informatique
M.	M. VALADIER	Mathématiques

M.	O. MAISONNEUVE (I.U.T.)		Informatique
M.	P. DELORS		Physique
M.	M. GODRON		Ecologie végétale

Maîtres de Conférences associés :

M.	P. JOUANNA (I.U.T.)		Génie civil
M.	Y. CORMARY		Géologie

Chargés d'enseignement :

M.	M. LEFRANC		Mathématiques
M.	Y. ESCOUFFIER (I.U.T.)		Informatique
M.	B. FILLIATRE		Informatique
M.	Y. CESARI (I.U.T.)		Informatique
M.	P. BESANCON		Physiologie de la nutrition appliquée à l'alimentation
M.	R. BEN AÏM		Génie chimique et traitement des eaux

Chargé des fonctions de maître de Conférences :

M.	G. SAUMADE (I.U.T.)
----	---------------------

Chargés de cours :

M.	J. GUIN (I.P.A.)
M.	Cl. PEROCHON (I.U.T.)
M.	M. MOUTON (I.U.T.)

A V A N T - P R O P O S

Monsieur le Professeur R. MARTY m'a permis de mener à bien ce travail qu'il a constamment guidé. Sa passion pour la recherche, l'immense étendue de son savoir, son organisation méthodique et ses multiples encouragements ont été pour moi un précieux enseignement et un soutien incessant. Je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude.

Monsieur le Professeur G. LYON m'a fait le grand honneur d'accepter de juger cette thèse. Ses compétences dans les domaines de la neuropathologie et de la neurologie ont grandement contribué à l'enrichissement de nos connaissances. Je le prie d'agréer, avec mes remerciements, l'hommage de ma déférente considération.

Monsieur le Professeur J.-D. BAYLE a bien voulu accepter de s'intéresser à ce mémoire et de siéger à ce jury. Je l'en remercie très vivement.

Je suis particulièrement heureux de témoigner ma sincère reconnaissance à Monsieur le Professeur J.-L. CHANAL. Toujours bienveillant à mon égard, il a su par ses conseils pertinents favoriser mon initiation aux techniques biophysiques et biochimiques.

Je ne voudrais pas terminer sans adresser mes vifs remerciements à tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont aidé sous des formes diverses à l'accomplissement de cet ouvrage. Je ne peux les citer tous, mais je désire cependant faire une place spéciale à Mesdames J. BOYER et M. CHAT et Monsieur P. SIBLEYRAS qui, dans leur domaine technique respectif, ont apporté une contribution efficace à la réalisation de ce travail en donnant toujours le meilleur d'eux-mêmes.

oo0oo

MATURATION POSTNATALE DE LA NEUROGLIE DANS LE SYSTEME
NERVEUX CENTRAL CHEZ LE RAT.

- Etude radio-autographique dans ses rapports
avec la myélinisation
- Aspects réactionnels.

par

Jean FULCRAND

*Laboratoire de Neurophysiologie
Université des Sciences et Techniques du Languedoc
F.34060 Montpellier Cedex*

S O M M A I R E

	Pages
INTRODUCTION	1
RAPPELS ANATOMIQUE, BIOCHIMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE	4
I - La gaine de myéline	4
1/ Myélinogenèse	4
A. Mécanisme	4
B. Modalités	7
a/ Dans le système nerveux central	7
b/ Dans le système nerveux périphérique	8
C. Changements survenant dans les cellules de la gaine	8
D. Changements survenant dans les cellules nerveuses.	9
2/ Structure définitive	11
II - Aspects biochimiques de la myélinogenèse	12
III - Autres rôles des cellules névrogliques	13
1/ Rôle mécanique	13
2/ Rôle trophique	14
3/ Autres rapports avec les populations neuroniques	14
A. Au cours de l'ontogenèse	14
B. A l'âge adulte	14
MATERIEL ET METHODES	16
I - Matériel	16
II - Techniques radio-autographiques	16
1/ Molécules marquées	17
A. Nature du radio-isotope	17
B. Site d'injection	18
C. Doses	18
D. Disponibilité du marqueur	20
2/ Emulsions	20
3/ Exposition radio-autographique	22
4/ Traitement photographique	23
III - Techniques biophysiques et biochimiques	25
1/ Scintillation liquide	25
2/ Chromatographie sur papier et en phase gazeuse. Elec- trophorèse. Lyophilisation	25

IV - Techniques histologiques	25
1/ Fixation	25
2/ Inclusion et exécution des coupes	26
3/ Colorations	27
A. Coloration du noyau	28
B. Méthode neurofibrillaire	28
C. Méthodes myéliniques	29
V - Techniques opératoires	29
1/ Occlusion palpébrale	30
2/ Enucléation	30
VI - Méthode de comptage des cellules	30
1/ Méthodes classiques	30
2/ Photométrie et cartographie combinées	31
VII - Niveaux d'enregistrement des résultats et traitements statistiques	35
1/ Niveaux d'enregistrements des résultats	35
2/ Traitements statistiques	36
RESULTATS ET DISCUSSION ANALYTIQUE	39
<u>1^{ère} Partie</u> : Etude radio-autographique de la gliose de myélinisation	39
I - Validité de la technique radio-autographique : spécificité du marquage	39
1/ Résultats	40
A. Clearance plasmatique de la radio-activité pour la thymidine tritiée	40
B. Elimination urinaire de la radio-activité pour la thymidine tritiée	43
C. Origine de la radio-activité	43
2/ Discussion	45
A. Temps de disponibilité	45
B. Nature des métabolites de la thymidine tritiée	46
C. Processus de déméthylation et déshydrogénation	46
D. Incorporation de la thymidine	47
II - Identification et quantification histologiques des cellules névrogliales	48
1/ Résultats	49
A. Oligodendrocytes	50
B. Astrocytes	50
C. Autres variétés cellulaires	55
D. Quantification des diverses catégories de cellules névrogliales	55

2/ Discussion	56
A. Oligodendrocytes	56
B. Astrocytes	59
C. Autres variétés cellulaires	59
D. Quantification des diverses catégories de cellules névrogliales	60
III - Prolifération névrogliale dans le prosencéphale	62
1/ Résultats	62
A. Nombre total et densité des cellules névrogliales marquées en fonction de l'âge	66
a/ Dans les régions génératives	66
b/ Dans la substance grise	66
c/ Dans la substance blanche	68
B. Nombre moyen de grains par cellule	69
2/ Discussion	70
A. Prolifération cellulaire dans les régions génératives	70
a/ Activité dans la région périventriculaire du ventricule latéral	70
b/ Persistance du renouvellement des populations névrogliales	71
B. Prolifération cellulaire dans la substance grise	73
C. Prolifération cellulaire dans la substance blanche	74
D. Nombre moyen de grains par cellule	76
IV - Migrations névrogliales	77
1/ Résultats	77
A. Date de l'injection : 2 jours et demi	79
a/ Densité de l'ensemble des cellules névrogliales ; densité et pourcentage des cellules névrogliales marquées ...	79
. segment antérieur du tractus optique	79
. segments moyen et postérieur du tractus optique	79
b/ Nombre de grains par noyau de cellule névrogliale marqué	82
c/ Pourcentage respectif des cellules névrogliales marquées dans les trois régions contiguës	82
B. Date de l'injection : 6 jours	82
a/ Densité de l'ensemble des cellules névrogliales ; densité et pourcentage des cellules névrogliales marquées	82

. segment antérieur	82
. segments moyen et postérieur	83
b/ Nombre de grains par noyau de cellule névroglie marquée	83
C/ Pourcentage respectif des cellules marquées dans les trois régions contiguës..	83
2/ Discussion	83
A. Multiplications cellulaires dans le tractus optique.....	83
B. Origine et migration des nouvelles cellules névrogliques	86
C. Evolution du nombre de grains par noyau	86
V - Gliose de myélinisation	91
1/ Résultats	91
2/ Discussion	92
A. Quantification des cellules névrogliques marquées	92
B. Interprétation des résultats dans le contexte de la maturation postnatale	95
C. Cinétique de la gliose de myélinisation	99
VI - Myélinisation	100
1/ Résultats	100
2/ Discussion	102
A. Considérations générales	102
B. Rapports spatio-temporels entre la gliose et la myélinisation	106
C. Cinétique de la myélinisation	107
<u>2ème Partie</u> : Aspects réactionnels des cellules névrogliques ..	109
1/ Résultats	109
1. Evolution de la densité cellulaire et de la surface du nerf optique en fonction de la modalité opératoire choisie	111
2. Evolution de la densité cellulaire et de la surface du nerf optique en fonction de l'âge de l'animal	116
2/ Discussion	118
1. Occlusion palpébrale	118
2. Enucléation	121
3. Interférence des processus de prolifération	124
DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS	127
RESUME	139
BIBLIOGRAPHIE	142

I N T R O D U C T I O N

La névroglie a été l'objet, depuis sa découverte par Virchow en 1846, d'un nombre important de travaux. Malgré cela, beaucoup de points concernant sa morphologie, ses fonctions et ses réactions restent encore obscurs ou mal définis. Au cours des dernières années cependant, de nombreuses recherches d'ordre radio-autographique ont été consacrées aux divers aspects de l'ontogenèse du système nerveux central, relatifs aux processus de prolifération, migration, différenciation, développement, maturation et organogenèse. La plupart de ces investigations, basées sur l'emploi de thymidine tritiée -précurseur spécifique de l'A.D.N.-, concernent les neurones. Pour la névroglie, des études qualitatives et quantitatives ont certes été effectuées au cours des périodes pré- et postnatales, mais leur caractère fragmentaire n'a pas permis d'établir le bilan complet de la cinétique névroglie au cours de l'ontogenèse chez les Mammifères. Le travail que nous présentons s'est fixé pour objectif de combler en partie cette lacune, par l'analyse systématique de la maturation postnatale de la névroglie dans le système nerveux central du Rat dans ses rapports avec la myélinisation, étape décisive du développement.

Une exploration quantitative systématique, portant sur l'ensemble des structures du prosencéphale, a tout d'abord été réalisée. Cette analyse a

été volontairement limitée à la *prolifération* des cellules névrogliques, qui a été quantifiée non seulement dans les régions génératives, mais également dans les parties du système nerveux central où les migrations ont lieu (Fulcrand et al., 1970 a et b). Au préalable, afin de préciser la spécificité du marquage, les paramètres métaboliques de la molécule de thymidine tritiée, ainsi que sa durée de disponibilité ont été déterminés (Fulcrand et al., 1968).

L'utilisation d'une méthodologie différente de la précédente a ensuite permis d'étendre le champ des recherches aux phénomènes de *migration* contemporains, puis consécutifs à la prolifération névroglique. Les particularités actuellement reconnues au développement et à la myélinisation des voies optiques primaires (Marty, 1962) nous ont ainsi conduit à choisir ce système comme modèle d'étude (Fulcrand et Marty, 1971). La première question qui s'imposait alors concernait l'identification des cellules névrogliques mobilisées au cours des phénomènes de multiplication cellulaire. En effet, bien qu'un nombre considérable de publications aient été consacrées à ce sujet, l'unanimité était loin d'être faite sur la nature des éléments névrogliques mis en jeu dans ces processus. La détermination des différentes populations gliales a été effectuée sur la portion rétrochiasmatique des voies optiques primaires, conformément aux critères proposés par Mori et Leblond dans le cadre d'observations d'ordre optique et électronique (Fulcrand et Marty, 1973). Les constatations enregistrées à propos des différents aspects de la cinétique gliale, ainsi d'ailleurs que d'autres problèmes fortement controversés qui en découlent -tel celui de l'origine des nouvelles cellules névrogliques- ont été discutés par rapport aux processus de myélinisation des fibres nerveuses. Or, l'existence de relations étroites entre les processus prolifératifs névrogliques qualifiés de gliose et

la myélinisation des fibres nerveuses a été soulignée pour la première fois par Roback et Scherer en 1935 sous le vocable de gliose de myélinisation. Cette expression, remise à l'honneur au cours du dernier lustre, sera adoptée, malgré l'ambiguïté du premier terme qui évoque un processus pathologique. Les résultats relatifs à la participation active des diverses catégories d'éléments gliaux, confrontés à la séquence d'apparition spatio-temporelle de la myéline au niveau du tractus optique, ont permis d'illustrer la notion de *gliose de myélinisation*, à la fois sur les plans qualitatif et quantitatif (Fulcrand et Marty, 1973).

Après avoir défini chez l'animal normal les paramètres caractéristiques de la cinétique névroglie en rapport notamment avec la myélinisation des fibres nerveuses, il restait à étendre les investigations au domaine neuropathologique, dans une perspective comparative tout d'abord. Dans ce dessein, la portion antéchiassmatique des voies visuelles primaires a servi de substrat d'étude (Fulcrand et al., 1973). Les conséquences histologiques de l'occlusion oculaire et de l'énucléation sur le développement postnatal du nerf optique ont été ainsi déterminées. Au cours de la période postnatale, chez l'animal énucléé particulièrement, les processus prolifératifs névroglie, normal et réactionnel, *interfèrent*. De la sorte, à la gliose de myélinisation normale, se surajoutent des processus réactionnels, qualifiés respectivement de gliose de résorption et de gliose de substitution.

Au total, grâce en particulier aux techniques radio-autographiques, un bilan homogène du comportement, tant normal que réactionnel, des cellules névroglie, centré sur la myélinisation, a pu être établi dans la période postnatale.

RAPPELS ANATOMIQUE, BIOCHIMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE

Les rappels concernent en premier lieu la gaine de myéline. Le mécanisme de sa formation, c'est-à-dire la myélinogenèse, ainsi que sa structure sont successivement examinés. Grâce surtout à l'apport de la microscopie électronique, les différentes étapes de la myélinogenèse sont aujourd'hui mieux connues. Les aspects biochimiques, liés principalement aux modifications du métabolisme lipidique contemporains des phénomènes étudiés, sont ensuite passés en revue. Enfin, un aperçu physiologique, consacré aux autres fonctions des cellules névrogliales, fait l'objet d'un paragraphe spécial.

I - La gaine de myéline

1/ Myélinogenèse

A/ Mécanisme

Les micrographies des fibres nerveuses montrent que la gaine de myéline est une expansion de la membrane cellulaire, soit de la névroglie, soit de la cellule de Schwann (Bunge, 1968 ; Davison et Peters, 1970) (Pl. 1, fig. 1 page 5). Selon Friede (1966 et 1970) et Allt (1972), la formation de la myéline implique deux processus essentiels, basés sur le concept du dépôt de la myéline en spirale :

- la cellule de la gaine enveloppe le cylindre-axe et forme une interface, le mésaxone, connectant les membranes plasmatiques interne, périaxo-

PLANCHE 1

Mécanisme et modalités de la myélinogenèse
(d'après Bunge, 1968)

Figure 1 : Diagramme montrant les rapports existant entre l'axone et sa gaine de myéline, d'une part, et une cellule névroglie, d'autre part. La membrane plasmatique (pm) est double. Le mésaxone interne (im) est formé par un prolongement névroglie s'enroulant en spirale autour de l'axone (a). Occasionnellement, le cytoplasme (cy) est encore présent. Sur la section transversale, le cytoplasme se termine en languette (ol), tandis qu'il forme, sur le plan horizontal, une bande continue sur toute la longueur de l'internoeud, en relation avec au moins un prolongement (c) d'une cellule névroglie (g). Chaque segment axonique est séparé de ses voisins par un noeud de Ranvier (n).

Figure 2 : Modalités de la myélinogenèse.

- A - Dans le système nerveux périphérique. Le prolongement de la cellule de Schwann qui myélinise un seul segment d'axone recouvre la région nodale.
- B-D- Dans le système nerveux central. Le diagramme montre qu'une cellule névroglie est en relation avec 1 ou 2 segments d'axone. En outre, la région nodale n'est pas entièrement couverte par le prolongement glial.

PLANCHE 1

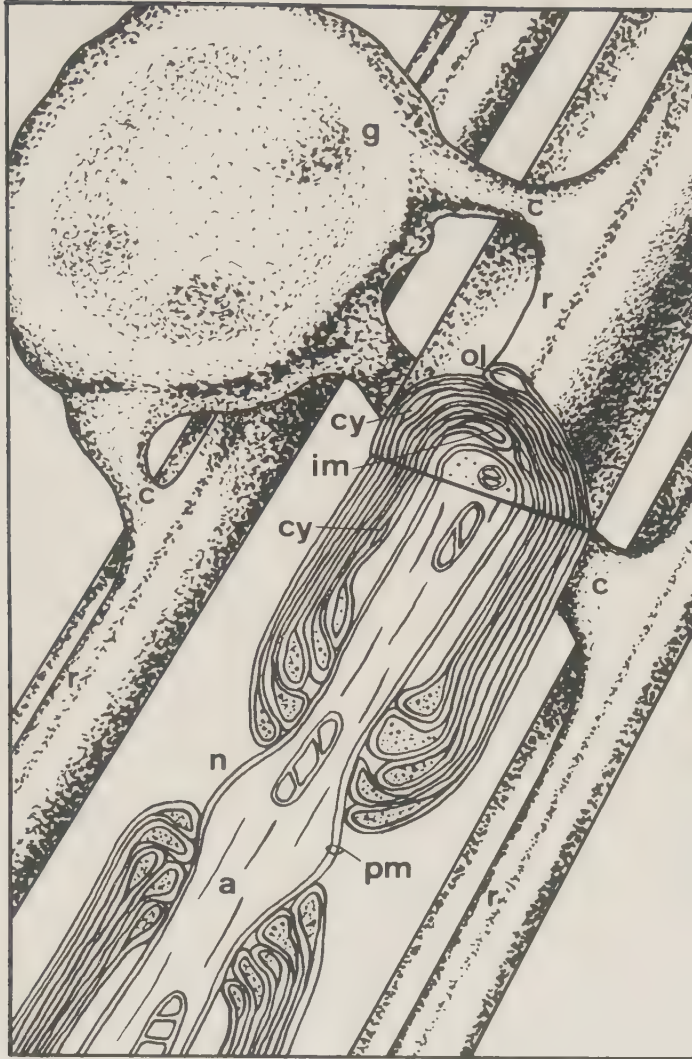


fig. 1

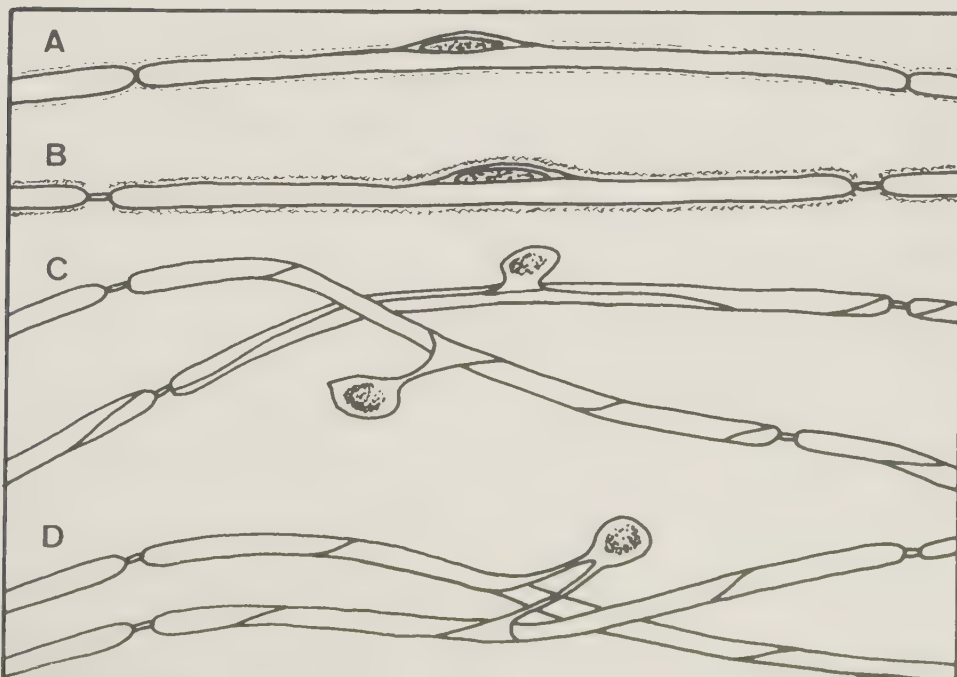


fig. 2

nique, et externe ; le mésaxone s'allonge en tournant en spirale autour du cylindre-axe.

- la perte de cytoplasme entre les membranes de mésaxone enroulées, qui résulte de la fusion des surfaces internes de chaque série de membranes cellulaires adjacentes, entraîne un feuillet de myéline compact, dense aux électrons.

L'augmentation du calibre axonique est observée avant que l'axone n'entre en contact avec la cellule de la gaine ; la croissance de l'axone représente le premier événement de la myélinogenèse. Le contact plus ou moins intime avec la cellule de la gaine constitue la phase suivante, qui représente une condition de l'enroulement et assure la coalescence des deux compartiments cellulaires. L'étape suivante est marquée par la formation d'une myéline transitoire, qui apparaît quand l'axone acquiert son enveloppe individuelle de gaine de cytoplasme cellulaire et qui s'objective par les fibres de promyéline. La formation de ces fibres est caractérisée par les processus suivants : une cellule de la gaine prend contact avec le cylindre-axe, l'entoure, forme un mésaxone et produit l'élongation initiale de celui-ci sous la forme d'un à trois enroulements de membranes mésaxoniques non fusionnées autour de l'axone. La formation des fibres promyéliniques s'accomplit dans les tractus centraux par l'attachement des prolongements névrogliques au cylindre-axe.

La première apparition des membranes cellulaires fusionnées produit un feuillet de myéline dense aux électrons. A ce stade, la fibre est considérée comme myélinisée. Le dépôt de myéline se poursuit durant toute la vie chez le Rat (Norton et al., 1967). En certains points, il se produit également autour du corps cellulaire, entraînant la formation d'une gaine de myéline. C'est le cas des neurones ganglionnaires dans les deux compo-

sants de la VIII^e paire (cf. Rosenbluth, 1962, chez le Rat) et des neurones en culture (Hild, 1963 et Kim et Tanaka, 1970). Certains auteurs, Luse (1956), De Robertis et al. (1958), en particulier, décrivent dans le système nerveux central des processus myélinogénétiques différents, avec fusion de membranes et dépôts de lamelles de myéline successifs ; l'interruption de la gaine observée parfois et la variation du nombre de lamelles dans une gaine déterminée (périodicité irrégulière) constituent des arguments en faveur de cette théorie. Plus récemment, Raine et al. (1969) décrivent un mécanisme différent de remyélinisation précoce, consécutif à une démyélinisation segmentaire (cas de l'«experimental allergic neuritis» = E.A.N. et de l'«experimental diphtheritic neuropathy») ; l'axone est engainé par de nombreux processus de la cellule de Schwann par apposition ("tunification") qui forme des lamelles de myéline dont le nombre varie autour de l'axone. Enfin, Wolman (1971), dans une mise au point sur les données actuelles et les lacunes dans la connaissance de la structure de la myéline, envisage une structure globulaire plutôt que laminaire, celle-ci résultant d'un artéfact de coalescence lors des observations microscopiques à faible grossissement.

B/ Modalités de la myélinogenèse

Les modalités de la myélinogenèse sont différentes dans le système nerveux central et dans le système nerveux périphérique (Caley, 1967) (Pl. 1, fig. 2 page 5).

a) Dans le système nerveux central, la cellule névroglie peut émettre plusieurs prolongements et myéliniser plus d'un axone (Peters, 1960 et 1964) (Pl. 1, fig. 2 B-D page 5) ; cette particularité sera discutée plus

en détail dans le chapitre consacré aux multiplications névrogliales.

b) Dans le système nerveux périphérique, la cellule de Schwann, dont l'origine est encore discutée, s'attache elle-même à un segment de la fibre nerveuse et myélinise complètement un seul segment d'axone (Pl. 1, fig 2 A page 5). Occasionnellement, plusieurs axones correspondant à une cellule de Schwann sont trouvés durant la phase initiale de la formation des fibres promyéliniques, mais ils ne persistent pas. Les mésaxones de la cellule de Schwann sont souvent en forme de méandres, renversant leur course comme si le sens d'enroulement était incertain (Friede, 1970). C'est au niveau du système nerveux périphérique que le rôle de la cellule de Schwann a été démontré sans équivoque par Geren en 1954 et Robertson en 1955. Geren décrit la myéline du nerf périphérique comme un système membraneux spiralé, continu avec une membrane plasmatique d'une cellule de Schwann. Après ces descriptions initiales, des études ultérieures de la myélinisation par les cellules de Schwann, réalisées soit au cours de l'ontogenèse (Cravioto, 1965 ; Diner, 1965 ; Webster, 1971), soit pendant la remyélinisation après démyélinisation segmentaire (Lampert et Schochet, 1968 ; Ballin et Thomas, 1969), aboutissent à des conclusions conformes avec l'explication de Geren. Il faut mentionner que seules les références les plus significatives sont données à titre d'exemples, afin de ne pas alourdir la bibliographie ; les autres peuvent être relevées, pour la plupart des cas, dans les travaux cités.

C/ Changements survenant dans les cellules de la gaine durant la myélinogenèse

Les observations histochimiques suggèrent un accroissement métabolique des cellules de la gaine pendant la période la plus active de la myéli-

nogenèse. Ces faits concordent avec les changements dans la structure fine des cellules de la gaine, qui présente de grandes quantités de cytoplasme, contenant un réticulum cytoplasmique granulaire abondant et de nombreuses mitochondries. Le cytoplasme de la cellule de Schwann croît en proportion, ou le plus souvent en excès, avec l'augmentation de la quantité d'axoplasme durant la phase de la formation active de la myéline. La cellule de Schwann devient hypertrophique, puis atrophique, quand les gaines ont atteint leurs dimensions adultes (Friede et Samorajski, 1968).

D/ Changements survenant dans les cellules nerveuses durant la myélinogenèse

Chez le Rat, les volumes respectifs du cytoplasme et de l'axoplasme dans les cellules de la corne antérieure motrice et du ganglion spinal de L5 augmentent presque à la même vitesse que la myélinogenèse (Martinez et Friede, 1970 ; Friede, 1972). Les dimensions du noyau et du nucléole croissent à une vitesse plus lente, d'où il résulte une modification des relations nucléo-cytoplasmiques. Une relation linéaire statistiquement significative existerait entre le diamètre de l'axone et l'épaisseur de la gaine pour les fibres se myélinisant, ou pour les fibres adultes. De surcroît, la Pl. 2, fig. 2 (page 10), illustre les rapports de proportionnalité liant le diamètre de l'axone et la longueur du segment longitudinal d'axone. Chaque segment est séparé de ses voisins, à ses deux extrémités, par un noeud (ou étranglement) de Ranvier, d'où son appellation d'espace internodal. Puisque la plupart, sinon le tout, de la machinerie concernant les synthèses protéiques réside dans le péricaryon neuronique, il en est conclu que la croissance du péricaryon stimule celle de l'axone et *vice versa*. Le corps de la cellule nerveuse peut contrôler la croissance de l'axone et, par con-

PLANCHE 2

Structure définitive de la myéline
(cf. Davison et Peters, 1970)

Figure 1 : Organisation moléculaire de la myéline.

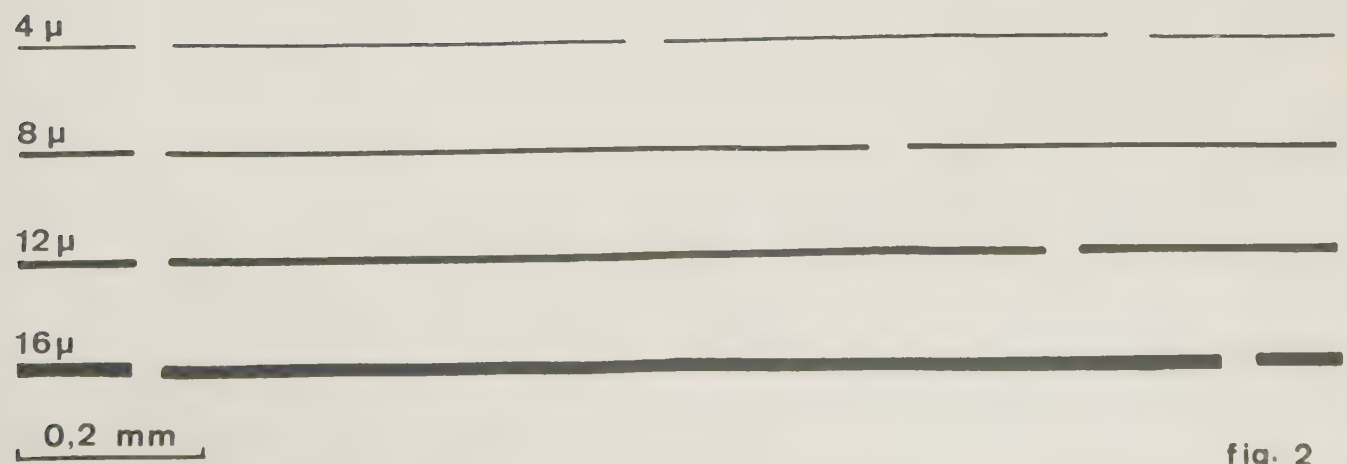
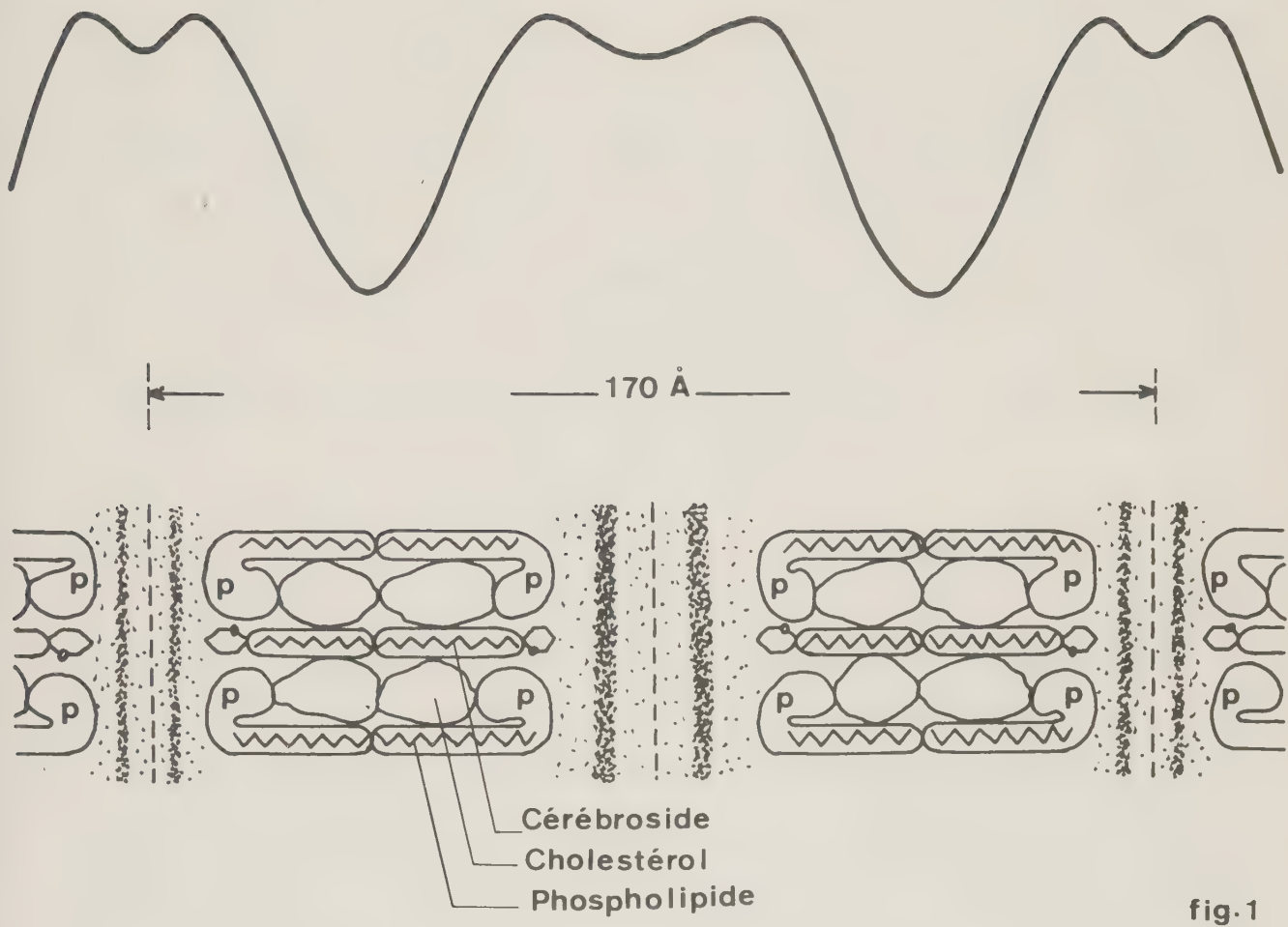
Le diagramme du haut montre le profil de la densité électronique. Les sommets correspondent aux lignes majeures -zones denses-, que séparent des zones moins denses, les lignes intrapériodiques.

Le diagramme du bas représente le schéma proposé par Engström et Finean et constitué de couches lipidiques disposées radialement alternant avec des couches de protéines tangentielles.

Figure 2 : Diagramme illustrant les relations entre le diamètre -indiqué sur le côté gauche- de la fibre nerveuse et la longueur de son segment internodal.

Les noeuds de Ranvier sont représentés par les intervalles entre les segments d'axone.

PLANCHE 2



séquent, la myélinogenèse. La détermination des mécanismes physiologiques, qui induisent le contact entre la cellule de la gaine et l'axone et contrôlent les interactions cellulaires, permettrait de mieux connaître la nature de l'organisateur responsable.

La formation de la myéline par la cellule de la gaine est normalement stimulée par les axones seuls. Cependant, dans des situations pathologiques, les processus astrocytaires sont capables de provoquer la myélinogenèse à la place des axones (Bignami et Ralston, 1968). D'une façon générale, la myélinogenèse est une période vulnérable, facilement contrariée par un stress quelconque qui peut déclencher une amyélinogenèse de la fibre nerveuse.

2/ Structure définitive

Après l'apparition du premier feuillet de myéline, la gaine de myéline croît donc en épaisseur par l'apposition de révolutions additionnelles sur le feuillet initial. Cette disposition couche par couche des feuillets successifs, caractérisée par une périodicité régulière -185 Å pour la myéline périphérique et 160 Å pour la myéline centrale (Bischoff et Moor, 1967)- donne à la gaine sa structure en lamelles concentriques si caractéristique (Fernandez-Morán, 1954). La formation d'un tour complet d'une lamelle de myéline est d'environ cinq heures pour des nerfs sciatiques de rats durant la première semaine de la vie postnatale (Friede et Samorajski, 1968). Dans le sens longitudinal, les cellules de Schwann sont d'abord contiguës ; elles se séparent pendant la myélinogenèse au niveau des étranglements de Ranvier (Pl. 1, fig. 2 A page 5). La microscopie électronique montre que la formation de la gaine débute vers le sixième jour dans le nerf sciatique, chez le Rat.

L'organisation moléculaire proposée par Engström et Finean en 1958 fait état de couches lipidiques constituées de molécules de phospholipides, de cholestérol et de sphingolipides, adossées par leurs extrémités hydrophobes et disposées radialement. Ces couches lipidiques alternent avec des couches de protéines orientées tangentielllement ; les lipides s'associent avec les protéines par leurs radicaux hydrophiles. Plus globalement, la gaine de myéline présente des zones denses, les lignes majeures, séparées par des zones moins denses, les lignes intrapériodiques (Pl. 2, fig. 1 page 10).

II - Aspects biochimiques de la myélinogenèse

Deux faits dominants se dégagent de la synthèse de nombreux ouvrages (Elliott et al., 1962 ; Adams et Davison, 1965 ; Pearse, 1968) et publications (cf. Davison et al., 1973) consacrés au problème des corrélations biochimiques et myélinogénétiques. Tout d'abord chez les Rongeurs et les Lagomorphes, au cours de la première semaine de la vie postnatale, la myéline immature est caractérisée par des taux élevés de phospholipides, tandis que les taux de cholestérol et de cérébrosides restent faibles. Deuxièmement, après le neuvième jour, a lieu une augmentation de la teneur en cholestérol et en cérébrosides (Folch-Pi, 1955 ; Horrocks, 1968 ; Dalal et Einstein, 1969 ; Dekaban et al., 1971 ; Matthieu et al., 1973), qui contribue à la constitution de la myéline adulte, stable vers le trentième jour chez le Rat (Davison et al., 1966).

Il y a donc ^{en} quelque sorte deux types de myéline, une précoce avec prédominance des phospholipides, et une tardive avec prédominance du cholestérol et des cérébrosides (Banik et al., 1968).

Des études radio-autographiques, basées sur des précurseurs des lipi-

des tel l'acétate tritié, permettent d'ailleurs de préciser la synthèse et le taux de renouvellement des lipides (Torvik et Sidman, 1965). L'accumulation des lipides, des protides et des protéolipides de Folch et Lees (neurokératine) précède dans le temps la myélinogenèse (Bass et al., 1969) ; au cours de celle-ci, intervient l'allongement des chaînes des acides gras. Quant aux protéines, elles ne jouent pas dans ces phénomènes un rôle secondaire ; elles conditionnent en effet la nature des lipides avec lesquels elles se complexent.

Un autre fait mérite également d'être noté ; il concerne l'accroissement des activités enzymatiques dans le cytoplasme des cellules de la gaine pendant la myélinogenèse, et particulièrement des phosphatases, des sulfatases (Wender et Kozik, 1968), ainsi que des enzymes oxydo-réductrices qui augmentent la synthèse des protéines.

III - Autres rôles des cellules névrogliques

A côté des rôles fondamentaux attribués aux cellules névrogliques dans les diverses glioses étudiées -glioses de myélinisation, de résorption et de substitution-, il est juste de préciser les autres fonctions remplies par les cellules névrogliques.

1/ Rôle mécanique, de soutien et protecteur

On sait depuis longtemps que le tissu névroglique constitue la charpente de soutènement du système nerveux central. Il formerait également des barrières hémato-cérébrale et méningo-cérébrale, entre le sang et le liquide céphalo-rachidien d'une part, et les neurones d'autre part.

2/ Rôle trophique

L'existence des relations glio-vasculaires étroites, des astrocytes ("pieds suceurs") et des péricytes notamment, explique la fonction nutritionnelle des cellules névrogliques. Ces cellules ont un métabolisme actif ; elles règlent le métabolisme des neurones et participent à l'équilibre homéostatique (Hydén, 1964 ; Brumberg et Pevzner, 1971). Le rôle trophique des cellules névrogliques est également mis en valeur par la présence de cellules satellites des neurones, oligodendrocytes satellites (cf. Peters et al, 1970).

3/ Autres rapports avec les populations neuroniques

A/ Au cours de l'ontogenèse

Les fibres névrogliques appartenant aux astrocytes (fibres de Bergmann), servent de guide aux neurones de la couche granuleuse externe dans leur migration aux stades ultimes du développement du cortex cérébelleux chez le Macaque (Rakić, 1971).

B/ A l'âge adulte

Un certain nombre d'observations d'ordre histologique plaident en faveur de rapports anatomo-fonctionnels entre les neurones et les cellules gliales. C'est ainsi que Scheibel et Scheibel (1958) décrivent, entre autres, des contacts synaptiques entre des boutons terminaux et des oligodendrocytes dans diverses structures telles que le cervelet et l'olive inférieure. Palay (1966) met l'accent sur le rôle isolant joué par la névroglie dans le fonctionnement ordonné et intégré du système nerveux ; il suggère l'hypothèse que les processus névrogliques sont répartis de façon telle qu'ils séparent ou isolent la surface réceptrice des influences afférentes, non spé-

cifiques, émanant de sources différentes ; cette éventualité explique en effet les modèles de distribution névroglique connus. Valenzuela y Chacón (1970) proposent que les cellules névrogliques du cervelet, sensibles à l'acétylcholinestérase, participeraient à la conduction de l'influx nerveux. En outre, dans un travail récent, Livingston et al. (1973) décrivent les jonctions glie-axone et discutent leur rôle dynamique en relation avec la conduction saltatoire.

Mais les preuves électrophysiologiques de ces assertions sont encore peu nombreuses. Pour Trachtenberg et Pollen (1969), les cellules névrogliques corticales sont impliquées dans la modulation de l'activité neuronique. Quant à Hild et Tasaki (1962), ils ont réussi à enregistrer l'activité électrique de cellules gliales en culture. Des recherches d'ordre neurochimique confirment les interrelations glie-neurone, c'est ainsi que pour Henn et Hamberger (1971) et Lasansky (1971) les cellules névrogliques règlent l'environnement ionique des neurones, contrôlent le passage des ions à travers leur membrane et au niveau de la synapse, et assurent le maintien de leur excitabilité.

MATERIEL ET METHODES

I - Matériel

La mise en oeuvre des protocoles expérimentaux a nécessité le sacrifice d'un millier de rats, parmi lesquels 320 ont été choisis. Les rats mâles et femelles proviennent de 40 rattes de souche Wistar et Sprague-Dawley (Souche O.F.A., dénomination française des C.F.E. américains). Pour chacun des stades analysés, deux à quatre animaux au moins sont utilisés. 50 souris ont également servi pour l'analyse du métabolisme de la thymidine tritiée.

II - Techniques radio-autographiques

L'intérêt des techniques radio-autographiques, généralisées depuis 1946 par Belanger et Leblond, et leurs nombreuses applications, notamment dans l'étude de la synthèse et du renouvellement des constituants cellulaires (Larra et Droz, 1970), en font une technique de choix de plus en plus répandue dans les investigations neuro-anatomiques (méthode de traçage des voies), neurophysiologiques et neuropathologiques.

Les techniques radio-autographiques employées, exigeant des contrôles fréquents et des conditions d'exécution standardisées, donnent des résultats comparables à ceux publiés dans des ouvrages récents, tels ceux de : Ficq, 1961 ; Leblond et Waren, 1965 ; Baserga, 1967 ; Feinendegen, 1967 ; Rogers, 1967 ; Gude, 1968 ; Roth et Stumpf, 1969 ; Schultze, 1969 ; Przy-

bylski, 1970 ; Fischer et Werner, 1971 ; Tubiana, 1971 ; Gahan, 1972.

1/ Molécules marquées

A/ Nature du radio-isotope

Les molécules marquées suivantes (C.E.N. de Saclay) sont utilisées dès leur réception afin de limiter les phénomènes d'autodécomposition ou d'autoradiolyse (Evans, 1966 ; Cleaver, 1967 ; Wand et al., 1967) qui peuvent altérer fortement l'efficacité de la méthode radio-autographique (Diab et Roth, 1970) :

Thymidine méthyle ^3H (activité spécifique 9,7 - 14,2 et 18 Ci/mM)

Thymidine méthyle ^{14}C (12 mCi/mM)

Thymidine 2- ^{14}C (48 mCi/mM)

La molécule de thymidine marquée au tritium ou au carbone 14 (Dörmer et Brinkmann, 1972) est un précurseur spécifique de l'A.D.N., fixé presque exclusivement à la périphérie du noyau et sur le nucléole ; une localisation cytoplasmique, quantitativement négligeable, est attribuée aux mitochondries (Gibor et Granick, 1964 ; Nass et Afzelius, 1965 ; Green et Bahr, 1970). Par ailleurs, selon Pelc (1968), il existerait dans le tissu nerveux en "non division" un A.D.N. métabolique en relation avec la différenciation des cellules. D'autres auteurs, tels Lerner et al. (1971), ont même mentionné un A.D.N. cytoplasmique lié aux membranes. L'existence de ces molécules satellites d'A.D.N. lui confère une hétérogénéité certaine, bien que d'un point de vue quantitatif elles ne représentent que moins de 1 % de la valeur de l'A.D.N. nucléaire, dans des conditions physiologiques normales. En effet, dans certains cas pathologiques caractérisés par des oncocytes riches en mitochondries anormales géantes (tumeurs rénales et paroti-

diennes par exemple), le rapport A.D.N. nucléaire/A.D.N. satellite subit des modifications importantes pouvant entraîner son inversion (Paoletti, 1971).

Quoi qu'il en soit, la thymidine tritiée, en raison de sa grande activité spécifique et de sa stabilité dans les conditions physiologiques normales, est très employée comme radiotraceur, particulièrement en radioautographie.

B/ Site d'injection

Les animaux sont anesthésiés au pentobarbital sodique (100 μ l/100 g) par voie intrapéritonéale. Pour les animaux adultes, la dose est augmentée en moyenne de 30 à 50 μ l/100 g. Les injections de thymidine tritiée, toujours uniques, sont effectuées le plus souvent par voie intrapéritonéale ; dans certains cas, des injections intramusculaires et intraveineuses leur sont substituées ; pour ces dernières, une technique originale de microperfusion a été mise au point : un cathéter de polyéthylène borgne est introduit dans la veine jugulaire externe droite ou gauche ; sur ce cathéter peuvent être adaptées successivement deux microseringues, l'une contenant le radio-élément, l'autre contenant un mélange de sérum physiologique hépariné servant à évacuer le produit.

C/ Doses

Les doses utilisées varient en fonction de plusieurs paramètres parmi lesquels le poids de l'animal, le site d'injection et la finalité expérimentale adoptée. Les indications concernant les doses sont portées sur le tableau 1.

Site d'injection	Thèmes de Recherche			
	Métabolisme de la thymidine tritiée	Prolifération névrogliques	Migration névrogliques	Gliose de myélinisation
Intrapéritonéale	20 μ Ci pour rats de 150g 5 μ Ci pour Souris	2 μ Ci/g de poids total	5 μ Ci/g de poids total	5 μ Ci/g de poids total
Intramusculaire	20 μ Ci pour rats de 150g 5 μ Ci pour Souris			
Intraveineuse	20 μ Ci pour rats de 300 g			

Tableau n° 1

Conformément aux observations de Samuels et Kisielewski, 1963 ; Cleaver, 1967 ; Chibon, 1968 ; Fliedner et al., 1968 ; Lewis, 1968 ; Chaudhuri et al., 1971 ; Potter, 1971 ; Cleaver et al., 1972, entre autres, les effets radiotoxiques de la molécule de thymidine tritiée employée aux doses ci-dessus indiquées sont en principe inexistantes, surtout à court terme.

Les délais entre l'injection et le sacrifice se situent entre 0 et 4 heures dans l'étude métabolique de la molécule de thymidine tritiée ; ils sont constants et de 3 h 15 mn dans les expériences relatives à la prolifération au niveau prosencéphalique, expériences qui portent sur les stades suivants : 20 h, 2, 7, 11, 16, 19, 24 et 47 jours. En revanche, pour les phénomènes propres à la migration et à la gliose de myélinisation, les délais augmentent progressivement depuis 2 jours jusqu'à 17 jours ; dans ce

dernier cas, 2 stades sont choisis, à savoir 2 jours et demi et 6 jours après la naissance.

D/ Disponibilité du marqueur

La thymidine tritiée utilisée *in vivo* autorise des marquages cellulaires limités dans le temps, d'une durée inférieure à 30 minutes (Cronkite et al., 1959 a et b ; Rubini et al., 1960 et 1962 ; Diderholm et al., 1962 ; Staroscik et al., 1964 ; Cleaver, 1967 ; Blenkinsopp, 1968 ; Fulcrand et al., 1968 ; Mori et al., 1970). Les résultats concernant le comportement de la molécule marquée seront discutés dans le chapitre "Résultats et Discussion" paragraphe I (page 39).

2/ Emulsions

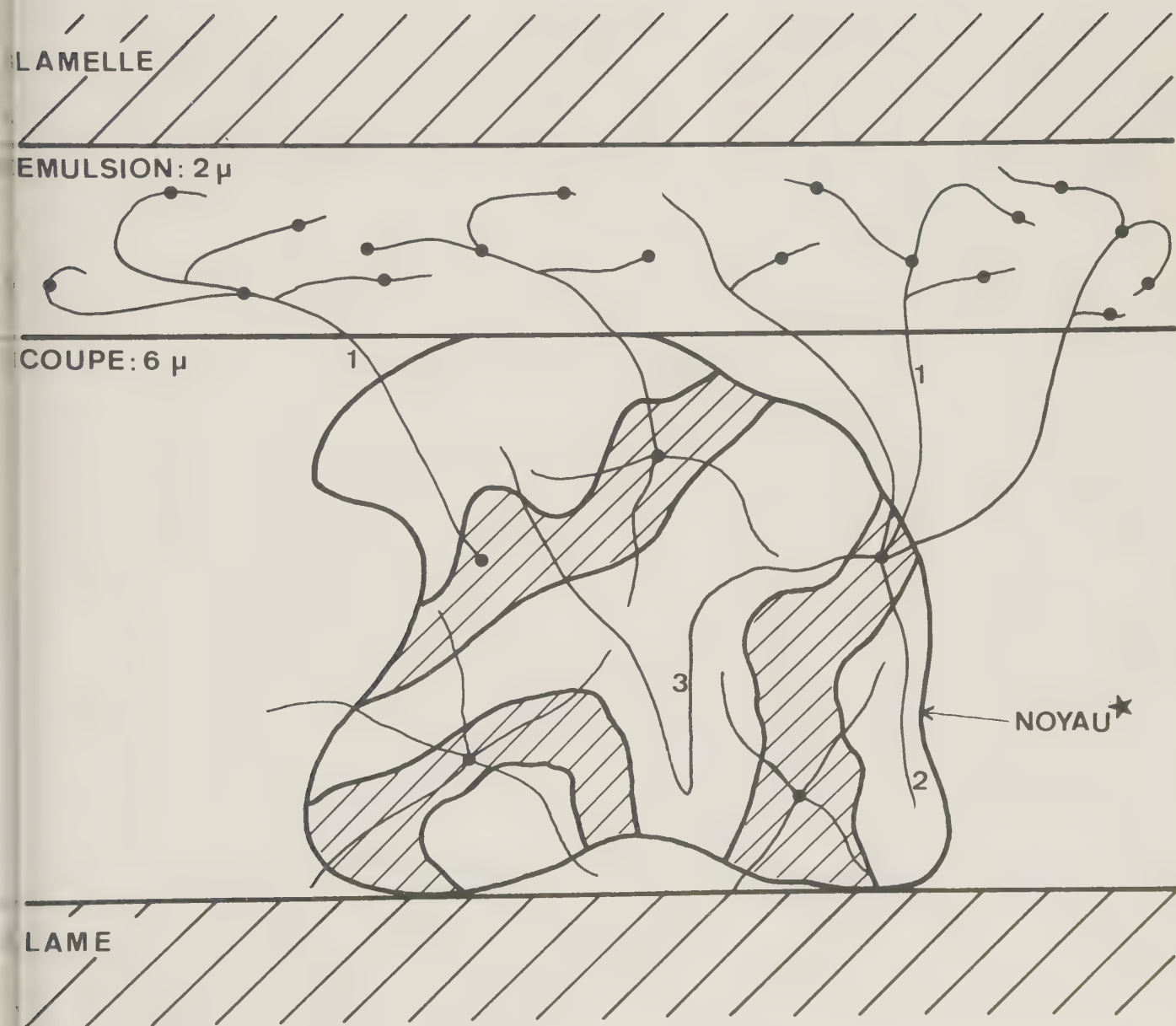
Après déparaffinage, les coupes sont généralement recouvertes d'une émulsion nucléaire caractéristique (Claes, 1968 ; Bogoroch, 1972) à grains fins permettant une bonne résolution, à savoir l'émulsion K₂ Ilford (Pl. 3, page 21). D'autres émulsions semi-liquides (K₅, G₅ Ilford) ou sur plaque (émulsion G₅ Ilford), ainsi que des films Kodirex, sont également employés. Les émulsions sont stockées dans un réfrigérateur dont l'ampoule électrique est protégée par un écran Wratten. Le coulage de l'émulsion s'effectue dans une pièce spécialement adaptée -étanche à la lumière et précédée d'un sas- et climatisée à 28° C avec 70 % d'humidité relative, selon une technique bien standardisée assurant une bonne reproductibilité des résultats. L'émulsion est dissoute, en proportions égales (1 : 1), dans l'eau distillée garnissant un tube de Jolly ou de Borrel, placé dans un bain-marie porté à une température de 43° ; les tubes de Jolly, plus étroits, exigent une moindre quantité de liquide et permettent un meilleur égouttage des lames. Il est recommandé d'homogénéiser la solution avant le trempage des

PLANCHE 3

Diagramme d'une préparation radio-autographique

Le noyau marqué * a incorporé des molécules de thymidine tritiée. Il émet des rayonnements β mou, à trajectoire soit normale (1), soit caractéristique de l'auto-absorption (2) ou de la rétrodiffusion (3). Ces paramètres physiques et leur représentation expliquent, entre autres, l'importance de l'épaisseur de la coupe.

PLANCHE 3



lames, opération qui élimine également la plupart des bulles et des micro-bulles, sources de grains parasites. Les lames sont trempées une par une, pendant 5 à 7 secondes, puis centrifugées à 1800 tours/minute pendant 2 minutes (centrifugeuse JOUAN E 61). Cette vitesse de rotation est obtenue en choisissant soit la modalité petite vitesse (bouton de réglage sur la position "maxi"), soit la modalité démarrage automatique (bouton de réglage des vitesses ramené 5 crans en arrière sur la graduation 8, 15 secondes après l'enclenchement de la minuterie). La centrifugation accélère et uniformise l'étalement de la couche sensible sur toutes les lames, diminuant ainsi les variations éventuelles dues au phénomène d'auto-absorption, moins important cependant pour le tritium que pour le carbone 14. Après séchage de quelques heures dans l'étuve à 37°, les boîtes contenant les lames et un sachet de dryérite sont soigneusement enveloppées d'un papier noir ; l'ensemble est enfermé dans un sac en plastique étiqueté et bien soudé.

3/ Exposition radio-autographique

Les sacs renfermant les lames en atmosphère desséchante sont alors placés dans le réfrigérateur à une température de 5° pendant une période de 30 à 32 jours, après étalonnage soigneux. Dans ces conditions, le voile de fond est vraiment négligeable. Il est bon de préciser à ce propos le rôle de la température d'exposition dont dépend la qualité des radio-autographies (Sawicki et al., 1968). Le temps d'exposition varie en fonction de la dose de radio-activité de l'échantillon ; une exposition trop courte peut ne pas révéler les cellules faiblement marquées, tandis qu'une exposition trop longue augmente le bruit de fond.

4/ Traitement photographique

Il est possible d'utiliser le révélateur ID ILFORD ou le D 19b KODAK. Le réducteur ID ILFORD, le plus souvent employé, est préparé de la façon suivante : le contenu du petit sachet est dissous à 40° à l'aide d'un agitateur magnétique dans 3,5 litres d'eau distillée à l'intérieur d'un grand bécher ; le contenu du grand sachet est ensuite ajouté lentement. Après dissolution, le volume d'eau distillée est complété à 4,5 litres. Après refroidissement la solution est filtrée et répartie dans des flacons placés dans le réfrigérateur. La révélation devant s'effectuer à 20°, il est recommandé de disposer les flacons de révélateur dans la chambre noire plusieurs heures avant l'utilisation. Le produit dilué en proportions égales avec de l'eau distillée (1 : 1) est utilisé dans des bacs de 200 ml permettant un traitement unique de 10 lames à la fois, ces lames étant au préalable rangées dans un bac à rainures. Comme pour le révélateur, afin d'équilibrer la température à 20°, la boîte contenant les lames sera placée dans la chambre noire quelque temps auparavant. Le temps de révélation déterminé sur des lames témoins avant chaque série d'expériences est de l'ordre de 3 minutes. Cette vérification systématique de la durée du développement s'impose en raison du rôle primordial qui lui est attribué dans la mise en évidence objective, quantitative et qualitative, des grains d'argent (Kopriva, 1967). Après passage éventuel dans un bain d'arrêt acétique, les lames sont transférées rapidement dans un bain fixateur acide "Lumière" à l'hyposulfite de soude acide et anhydre (300 g dissous dans un litre d'eau distillée à 20°), où elles séjournent 3 minutes également. Après fixation, les lames sont lavées dans des cristallisoirs remplis d'eau distillée à 15°, souvent renouvelée. Afin d'empêcher la prolifération bactérienne de se développer sur la gélatine, les lames ne resteront pas plus de 1 heure dans l'eau ; ce lavage permet également d'éviter la diminution du

nombre des grains d'argent par l'eau de rinçage (Rowinski et al., 1971). Cette durée est bien délimitée, comprise entre le seuil minimal de révélation efficace permettant le comptage aisé des grains d'argent et le seuil maximal fixé par la valeur du voile de fond, qui ne doit pas dépasser 3 grains par cellule. A ce sujet, il est toujours prudent d'avoir des lames témoins non radio-actives pour évaluer les grains d'argent parasites formés par le développement d'images latentes, provoquées par des agents autres que la radio-activité, les réactions chimiques, la lumière, le frottement mécanique, la chaleur par exemple.

Bien que la validité et l'efficacité de la technique radio-autographique employée restent indiscutées, un nombre important de travaux lui ont été consacrés ces dernières années en vue de l'améliorer sur des points particuliers. Plutôt que d'en établir une liste chronologique qui serait fastidieuse, il semble préférable d'indiquer que ces perfectionnements, en rapport notamment avec les exigences et les progrès de la microscopie électronique, vont dans le sens d'une automatisation et d'une rationalisation des procédés de traitement et d'observation. Les innovations concernent les diverses opérations décrites dans ce chapitre : manipulation de plusieurs lames à la fois dans des récipients appropriés (Coleman, 1965 ; Kopriva, 1966 ; Hilleman, 1967 ; Traurig, 1967 ; Prates Campos et al., 1968 ; Haissig, 1969 ; Schaper et Van Even, 1969 ; Skatkov, 1969 ; Barnawell et al., 1970) ; obtention de monocouches minces (Dohlman et al., 1964 ; Maraldi et al., 1972) ; suppression des effets chémographiques (Quade et al., 1970 ; Kraus et Giese, 1972) ; analyse automatique des résultats (Prensky, 1971 ; Bisconte, 1973), par exemple. De surcroît, un certain nombre de publications sont référencées dans les ouvrages généraux cités au chapitre "Matériel et Méthodes", paragraphe II, pages 16 et 17.

III - Techniques biophysiques et biochimiques

Le sang est prélevé par voie intracardiaque sur un même animal ou par décapitation chez des animaux différents, pour éviter les effets secondaires liés à la diminution du volume sanguin ; l'urine est recueillie par cathétérisme de la vessie.

1/ Scintillation liquide

Les comptages de radioactivité se pratiquent, avec des précautions particulières à l'égard de la phosphorescence, pour le plasma, l'urine et l'eau tritiée par scintillation liquide (scintillateurs Ecko et Packard).

2/ Chromatographie sur papier et en phase gazeuse ; Electrophorèse ; Lyophilisation

La chromatographie sur papier avec deux types de solvants, l'électrophorèse et la lyophilisation permettent d'analyser le plasma, déprotéiné ou non, et les urines. Quant au culot sanguin, la mesure du ^{14}C s'effectue en phase gazeuse.

IV - Techniques histologiques

1/ Fixation

L'animal anesthésié est perfusé lorsque la taille le permet, en général selon la méthode classique du bock à perfusion avec du sérum physiologique à 9‰, puis de la formaline à 10 %. Une pompe péristaltique à 6 canaux sert également, avec contrôle de la pression de perfusion par un manomètre à liquide. Dans la mesure du possible, à l'immersion est préférée la perfusion qui respecte beaucoup mieux les caractéristiques cytologiques, notamment nucléaires, et les mitoses s'il y a lieu (Blenk, 1969 ; Lodin et al., 1969 ; Cavanagh, 1970). Après décapitation, la tête est immergée dans

du formol neutre salé, conservé dans le réfrigérateur afin de ralentir les processus de destruction métabolique. 24 heures plus tard, le cerveau est prélevé délicatement, débarrassé de ses méninges et éventuellement fragmenté en 2 blocs. Ces derniers sont ensuite immergés le plus souvent dans le formol neutre salé à 10 %, maintenu au réfrigérateur. D'autres fixateurs ont été employés : alcool formol acétique, mélange fixateur de Cajal, liquide J de Laguesse, liquide de Carnoy, formol calcique. L'artéfact de rétention inhérent au fixateur, non oxydant de préférence, presque négligeable dans le cas des acides aminés accrochés par des liaisons non peptidiques (4 % environ des grains selon Peters et Ashley, 1967) n'est pas envisageable ici. La conservation dans le fixateur peut durer de 24 à 48 heures si le cerveau est destiné à être coupé au cryostat, et de 1 à 3 semaines en vue de l'inclusion dans de la paraffine. Dans ce dernier cas, le délai sera fonction du mode de fixation choisi, mais il n'est pas recommandé de laisser les pièces trop longtemps dans le fixateur. Smith et Dunbar en 1966, Jones en 1969, signalent en effet des pertes progressives de lipides après fixation formolée trop prolongée. Quant à la perte des nucléoprotéines, elle dépendrait du fixateur utilisé ; pour Liisberg (1962), elle serait peu importante pour les neurones tout au moins, alors que Schneider et Schneider (1967), l'ayant quantifiée dans le tissu cérébral humain après fixation au formol et au Carnoy, la jugent plus sensible. Mentionnons enfin, avec Sumi (1969), l'influence du fixateur sur l'espace extracellulaire au cours de la maturation du cerveau chez le Rat.

2/ Inclusion et exécution des coupes

Deux techniques de coupes sont utilisées en vue des études quantitatives systématiques : coupe à la paraffine et coupe à la congélation.

Dans le cas de la paraffine, le cerveau entier ou fragmenté est placé dans un petit sac de gaze étiqueté. Après lavage soigneux et déshydratation dans des bacs plus larges que hauts, le cerveau est transféré dans trois bains successifs de paraffine dont le premier est effectué sous vide. Il est utile de préciser que les opérations de paraffinage et également de déparaffinage ne modifient pas l'A.D.N. cellulaire (Zamenhof et al., 1971). Les blocs constitués sont fixés sur une platine porte-objet, puis coupés à l'aide d'un microtome LEITZ. L'épaisseur des coupes adoptée doit être régulière ; elle varie entre 4 et 8 μ m, limites des épaisseurs appropriées à la technique radio-autographique utilisant la molécule de tritium, de faible énergie (Pl. 3, page 21) ; entre ces limites, le coefficient de variation des comptages des grains est minimal (Kortukov, 1968 ; Caviness et Barkley, 1971). Les coupes sont ensuite collées sur lames numérotées, parfaitement propres, et conservées à l'étuve à 30°.

La congélation, quant à elle, est réalisée à l'aide de neige carbonique ou d'azote liquide. Les coupes, de façon générale plus épaisses, sont exécutées à une température de -25° au cryostat (Dittes) ; elles sont recueillies et collées sur lames gélatinées.

3/ Colorations

Dans les conditions expérimentales choisies, le traitement radio-autographique précède toujours la coloration. Cette chronologie des opérations est largement répandue, au moins pour les colorations de Nissl en général. En effet, la galloxyanine ainsi que des colorants de la myéline comme les "luxol fast blue" doivent être utilisés avant l'étalement de l'émulsion (Deuchar, 1962 ; Thurston et Joffes, 1963 ; Callebaut et Demalsy, 1967 ; Hendrickson et al., 1972, par exemple).

Au sortir de l'eau distillée dans laquelle baignent les lames révélées et fixées, il est important de nettoyer les excès d'émulsion avec un chiffon non pelucheux, en laissant simplement une mince marge autour de chaque coupe. De nombreuses techniques de coloration sont utilisées, classées selon leurs affinités en 3 catégories : coloration du noyau, de l'axoplasme et de la gaine de myéline.

A/ Coloration du noyau

La plus fréquemment employée est le violet de Crésyl (méthode de Nissl, variante de Fernstrom, 1958). Cette oxazine colore tous les constituants acides de la cellule et, en particulier, les structures et organites contenant de l'A.R.N., c'est-à-dire le noyau névroglial dans son ensemble ou les corps de Nissl et le nucléole des neurones. Le violet de crésyl, inoffensif sur le plan radio-autographique, n'entraîne de ce fait aucune induction chimique susceptible de fausser les résultats, ce qui n'est pas le cas avec l'orcéine par exemple (Stocker et Müller, 1967). Le bleu de toluidine a également servi, notamment pour les préparations semi-fines. Dans le cadre de ces colorations nucléaires, il est bon de souligner l'importance de la différenciation.

B/ Méthode neurofibrillaire

La technique d'imprégnation argentique de Cajal, modifiée par Castro (1933), donne de bons résultats dans la mise en évidence des faisceaux au cours des premiers jours postnataux. Chez l'adulte, la technique d'imprégnation au carbonate d'argent d'après Penfield et Cone (1950) se révèle spécifique des oligodendrocytes.

C/ Méthodes myéliniques

Avec quelques modifications inhérentes au matériel étudié, le noir Soudan B, l'hématoxyline (méthode de Heidenhain-Woelcke), la méthode d'Alzheimer, Mann et Häggqvist modifiée par Busch, le "luxol fast blue" avec contre-coloration à l'érythrosine-orange G (Klüver et Barrera, 1953, variante R. Marty), permettent de suivre avec plus ou moins de succès la séquence d'apparition de la myéline. Enfin, les imprégnations par l'argent ammoniacal (Nauta et Gyax, 1951 et 1954 ; Fink et Heimer, 1967 ; Heimer et al., 1967 ; Eager, 1970) sont appliquées au matériel dégénéré.

De nombreuses modifications, la plupart du temps spécifiques, ont été apportées dans le domaine histologique, mais la majorité d'entre elles s'adressent à des tissus adultes, définitivement structurés. La difficulté réside en effet dans la mise en évidence d'éléments jeunes soumis à un métabolisme intense. Afin d'illustrer cette remarque, certaines publications peuvent être ajoutées à nos observations : Naoumenko et Feigin, 1961, 1963 ; Burke, 1968 ; Simmons, 1968 ; Ainge et al., 1969 ; Augulis et Sepinwall, 1971 ; Waiss et al., 1971 ; Golberg, 1972.

V - Techniques opératoires

Les interventions oculaires -occlusions et énucléations- sont réalisées sur des animaux âgés respectivement de 5, 10, 15 et 25 jours, c'est-à-dire à des dates précédant et suivant la mise en place de la myéline, d'une part, (myélinogenèse et myélinisation) et l'ouverture des yeux, d'autre part. Les délais séparant l'opération du sacrifice sont constants et de 30 jours.

1/ L'occlusion palpébrale

Chez les jeunes rats âgés de 5 et 10 jours, elle est obtenue grâce à l'interposition d'un écran de plastique opaque entre le globe oculaire et la paupière, après incision de celle-ci suivant la ligne de la future déhiscence. Du fait de la croissance de la paupière et malgré la mise en oeuvre de divers protocoles opératoires (sutures diverses, emploi d'araldite, coupure d'une fine bande palpébrale), la suture palpébrale conditionnant l'occlusion oculaire doit être renouvelée plusieurs fois dans les conditions nycthémérales adoptées.

2/ Enucléation

Chez les rats nouveau-nés, l'opération est effectuée, dans des conditions d'asepsie standards, sous la loupe binoculaire après anesthésie de l'animal, complétée par une injection locale de procaïne. La paupière est tout d'abord incisée, puis l'oeil est dégagé par résection des tissus et des muscles qui le retiennent à la cavité orbitaire. Il est alors procédé à la section du nerf optique le plus près possible du globe oculaire, avec le maximum de précautions pour éviter son étirement et la rupture des vaisseaux les plus gros. Les paupières sont ensuite recousues après que tout risque d'hémorragie ait été prévenu par l'adjonction de thrombasse 500.

VI - Méthode de comptage des cellules

1/ Méthodes classiques

Le comptage des cellules et le calcul de la surface du nerf optique sont réalisés sous objectif Leitz ultropak UO-22. L'analyse des modalités

de multiplication des cellules névrogliques dans le tractus optique est faite au moyen d'un microscope ortholux Leitz équipé d'une chambre claire (Pl. 4, page 32). Les divers éléments névrogliques appartenant à cette structure sont identifiés sous objectif UO-100, qui autorise un grossissement significatif de 1000 fois. Les cellules marquées, quant à elles, sont repérées en lumière réfléchie et contrôlées morphologiquement en lumière transmise. Ce double contrôle est nécessaire afin d'éliminer les artéfacts de marquage, toujours possibles même si le bruit de fond est négligeable. Les grains d'argent sont dénombrés en lumière réfléchie, où ils apparaissent plus nettement sur fond noir, leur taille semblant plus grosse en effet qu'en lumière transmise (Mertz, 1969). Il est important de souligner à ce propos que seules les cellules portant au minimum 5 grains sont comptées, afin d'éviter toute confusion entre les cellules réellement marquées et les autres. D'autre part, la densité des grains d'argent est toujours inférieure au seuil maximal de comptage, indication qui minimise les erreurs dues à la coïncidence.

2/ Photométrie et cartographie combinées

Cette méthode d'analyse semi-automatique a été mise au point au Laboratoire (Bisconte, Fulcrand et Marty, 1968). Le matériel comprend un microscope ortholux couplé avec un microphotomètre M.P.V. (Pl. 5, page 33). Cet ensemble est relié à un système cartographique constitué d'une table XY Nuclear Chicago, conjuguée à la platine du microscope par l'intermédiaire de 2 capteurs de déplacement Hewlett-Packard (Pl. 6 a et b, page 34). La table est munie d'un scripteur électromagnétique télécommandé, pouvant tracer des courbes (contours des cerveaux) grâce à un interrupteur à fréquence de coupure variable branché en dérivation sur le scripteur, et aussi poin-

PLANCHE 4

Schéma optique de la chambre claire et du microscope ortholux Leitz.

Un prisme semi-réfléchissant (20 % trajet microscope, 80 % trajet dessin) regroupe les deux images de la préparation et du dessin dans le tube binoculaire.

PLANCHE 4

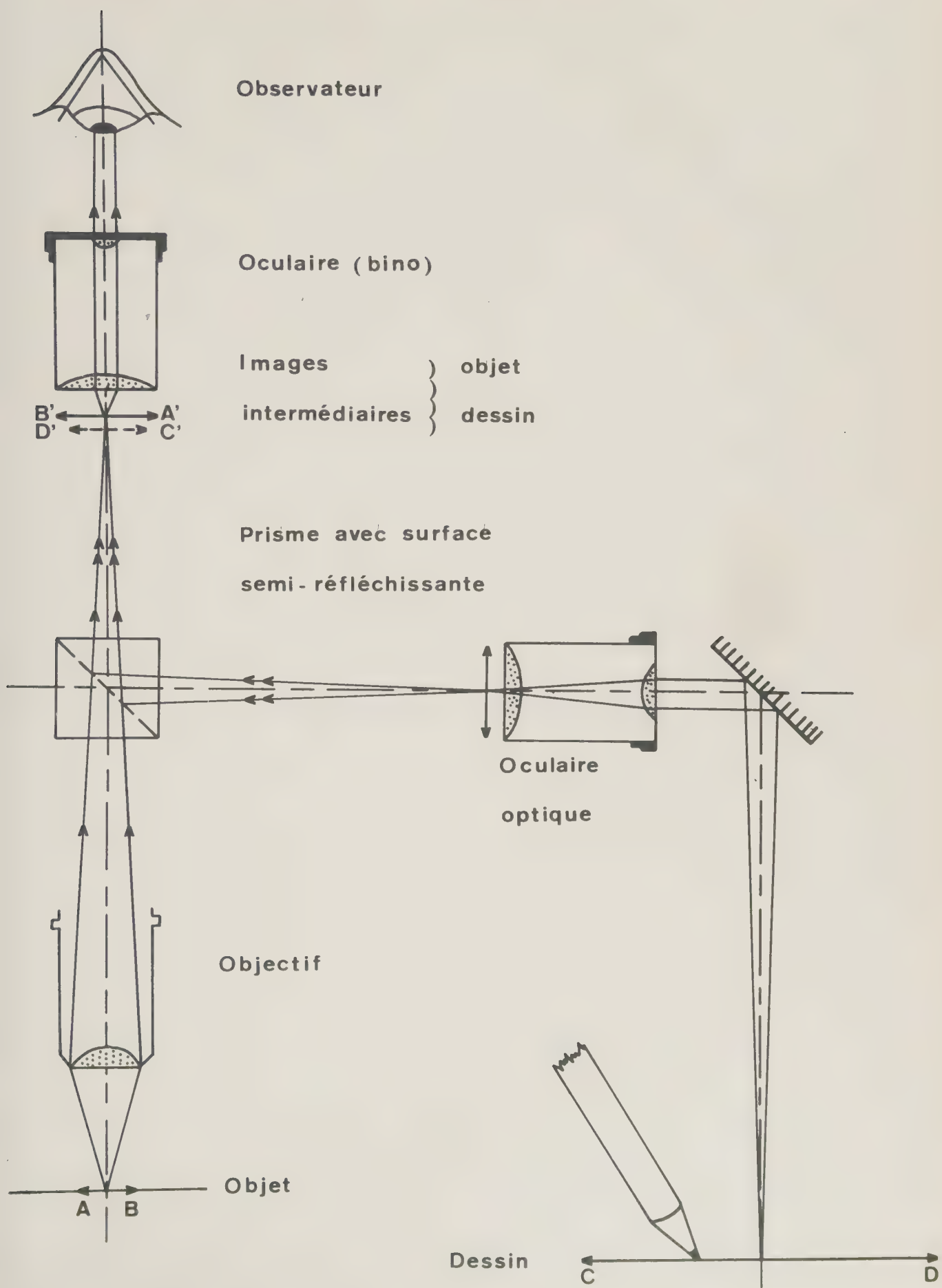


PLANCHE 5

Ensemble de mesure photométrique et cartographique

L'appareillage comprend un microscope ortholux équipé d'un dispositif de prise de vues -au milieu de la planche- et sur le côté gauche, une table X-Y conjuguée avec la platine du microscope, avec son alimentation. Deux dispositifs d'éclairage, par transmission et par réflexion, complètent cet ensemble.

PLANCHE 5

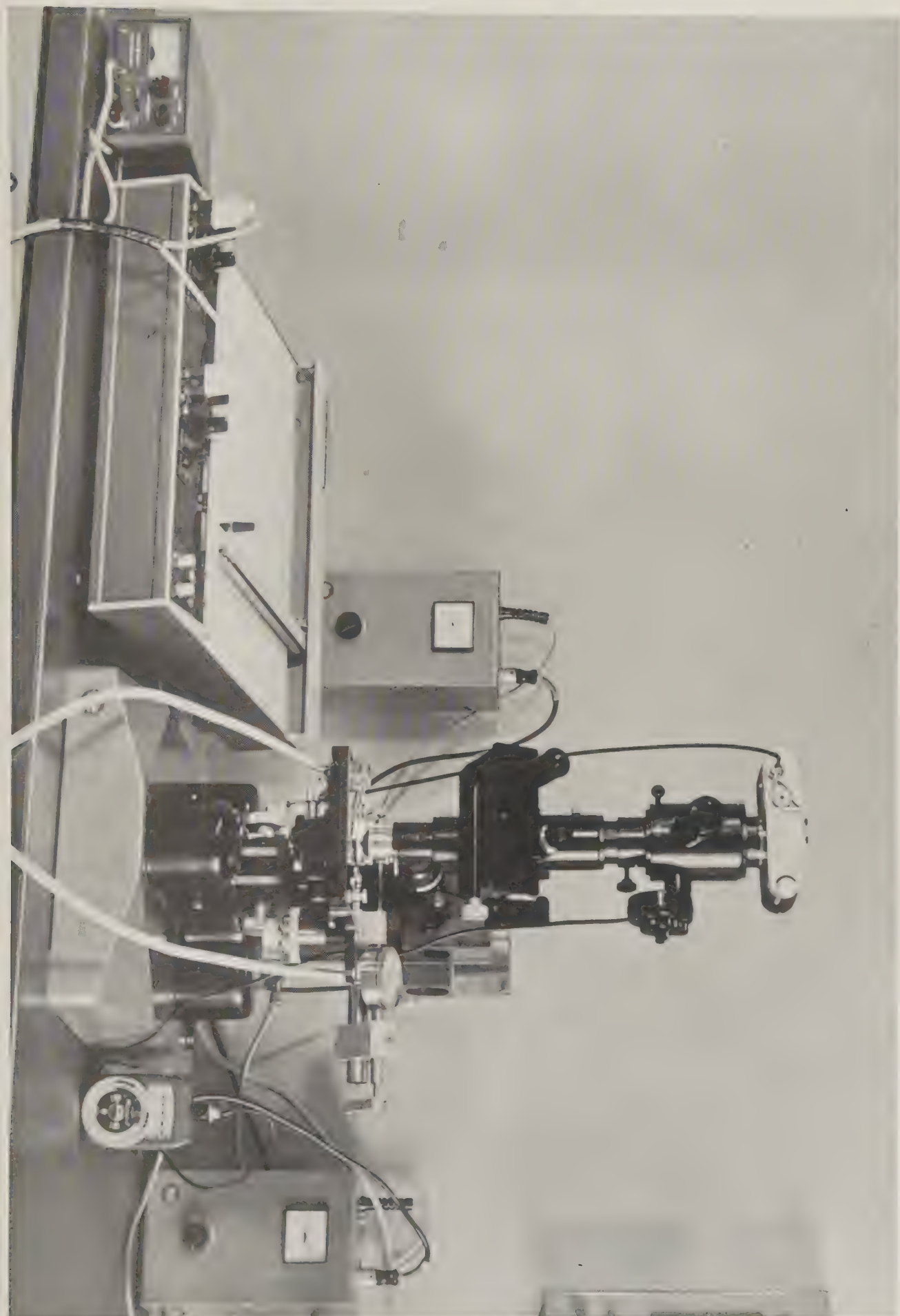


PLANCHE 6

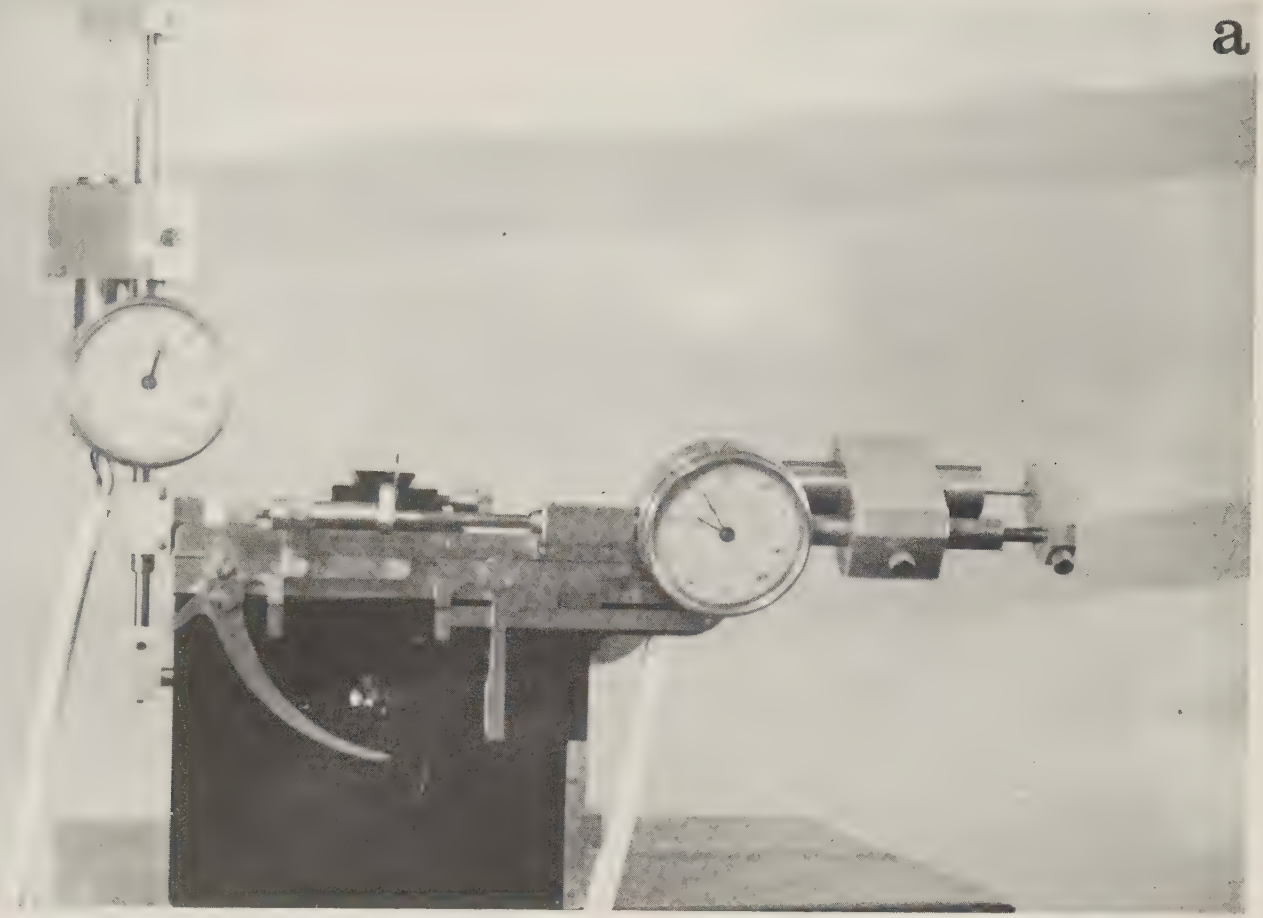
Dispositif cartographique

Figure a : Platine du microscope munie de comparateurs et équipée de deux capteurs de déplacement.

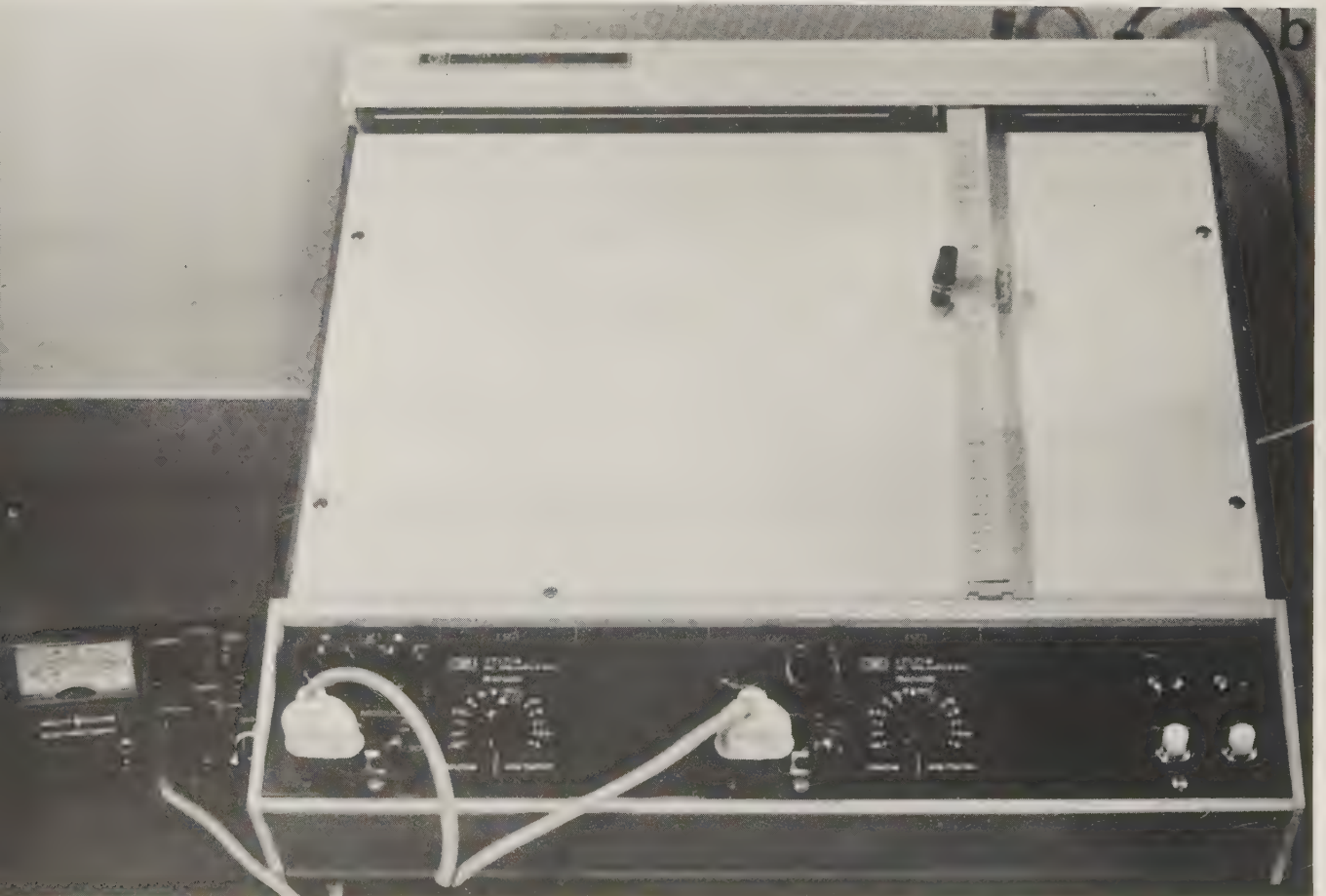
Figure b : Table traçante XY avec son scripteur monté.

PLANCHE 6

a



b



ter différentiellement des cellules parfois distantes de 2 ou 3 μm .

Cette procédure, rapide et précise, permet d'analyser intégralement une structure cellulaire, homogène ou non. Elle se décompose en plusieurs phases. Le gain d'amplification de la table XY, en rapport avec la surface à examiner, est fixe, de 80 fois pour les cerveaux de petite taille et de 16 fois pour les autres. Le contour du prosencéphale est dessiné sous objectif Leitz UO 11, le scripteur étant en position de frappe continue (10 c/s). L'observation est ensuite réalisée à l'aide des objectifs UO 75 et 100, sous la forme d'un "scanning" utilisant un micromètre oculaire et le traceur XY comme répétiteur de position. Les trois types d'éclairage -par transmission, par réflexion et l'éclairage mixte, qui révèle aussi bien les cellules que les grains d'argent- sont sollicités en permanence pour l'identification, l'indice ou intensité de marquage objectivé par le nombre de grains d'argent par cellule et enfin le repérage topographique des cellules marquées. Le pointage des cellules qui se trouvent dans le réticule oculaire s'effectue par simple pression sur un interrupteur. L'observateur peut en permanence retrouver une cellule déterminée en manipulant la platine du microscope de telle sorte que le stylet arrive à l'aplomb de la trace de cette cellule sur la carte.

VII - Niveaux d'enregistrement des résultats et traitements statistiques

1/ Niveaux d'enregistrement des résultats

Conformément au plan défini dans l'introduction, la prolifération névrologique est tout d'abord quantifiée au niveau du prosencéphale, à l'intérieur des limites A 4,2 - A 5,2 de l'atlas stéréotaxique d'Aïbe-Fessard et al. (1966). L'examen porte successivement sur le cortex cérébral, divisé

arbitrairement en trois parties de hauteurs égales (dorsale, latérale et ventrale), le corps calleux, la région périventriculaire (épendymaire et subépendymaire, ou ventriculaire et subventriculaire selon "The Boulder Committee", cf. Angevine et al., 1970, de la corne antérieure et du corps du ventricule latéral (Zeman et Innes, 1963), la région rhinencéphalique dorsale, la région rhinencéphalique ventrale avec le complexe amygdalien, la région diencephalique à laquelle le néostriatum est associé et, enfin, le tractus optique (Pl. 7, page 37). Les cellules marquées appartenant à la pie-mère, aux plexus et aux sillons choroïdiens ne sont pas comptabilisées. Pour tous les cerveaux prélevés, seul l'hémisphère gauche est étudié.

Le tractus optique, substrat des investigations concernant l'identification des populations névrogliques et les processus de migration, est envisagé comme suit : trois segments successifs y compris les tractus accessoires sont distingués dans le sens antéro-postérieur et trois régions contiguës se dégagent, de dedans en dehors, sur toute la longueur du tractus (Hayhow et al., 1960 ; Sherwood et Timiras, 1970 ; Kostović, 1971). Comme précédemment, les noyaux marqués situés dans les sillons et les plexus choroïdiens sont éliminés des valeurs obtenues.

Quant aux comptages relatifs au nerf optique, choisi répétons-le comme modèle d'études neuropathologiques, ils sont enregistrés à trois niveaux, proximal, médian et distal, par rapport à la cavité orbitaire.

2/ Traitements statistiques

Il convient de préciser tout d'abord que les différentes valeurs obtenues -nombres, densités, pourcentages- sont calculées indépendamment de l'épaisseur des coupes et du diamètre des noyaux (Abercrombie, 1964 ; Clar-

PLANCHE 7

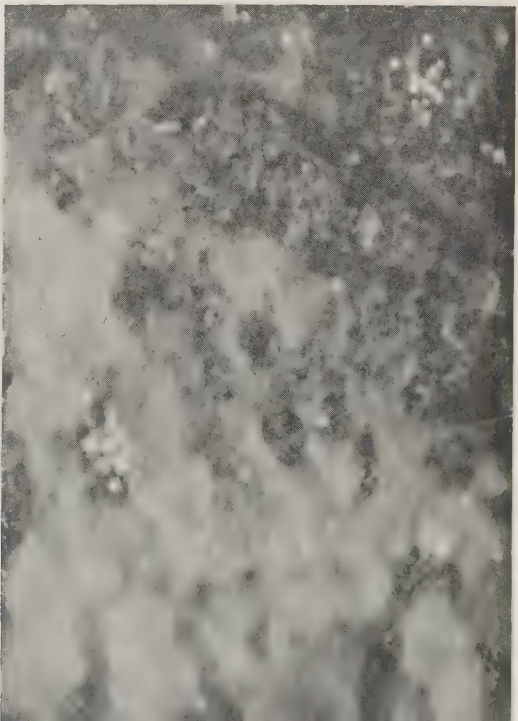
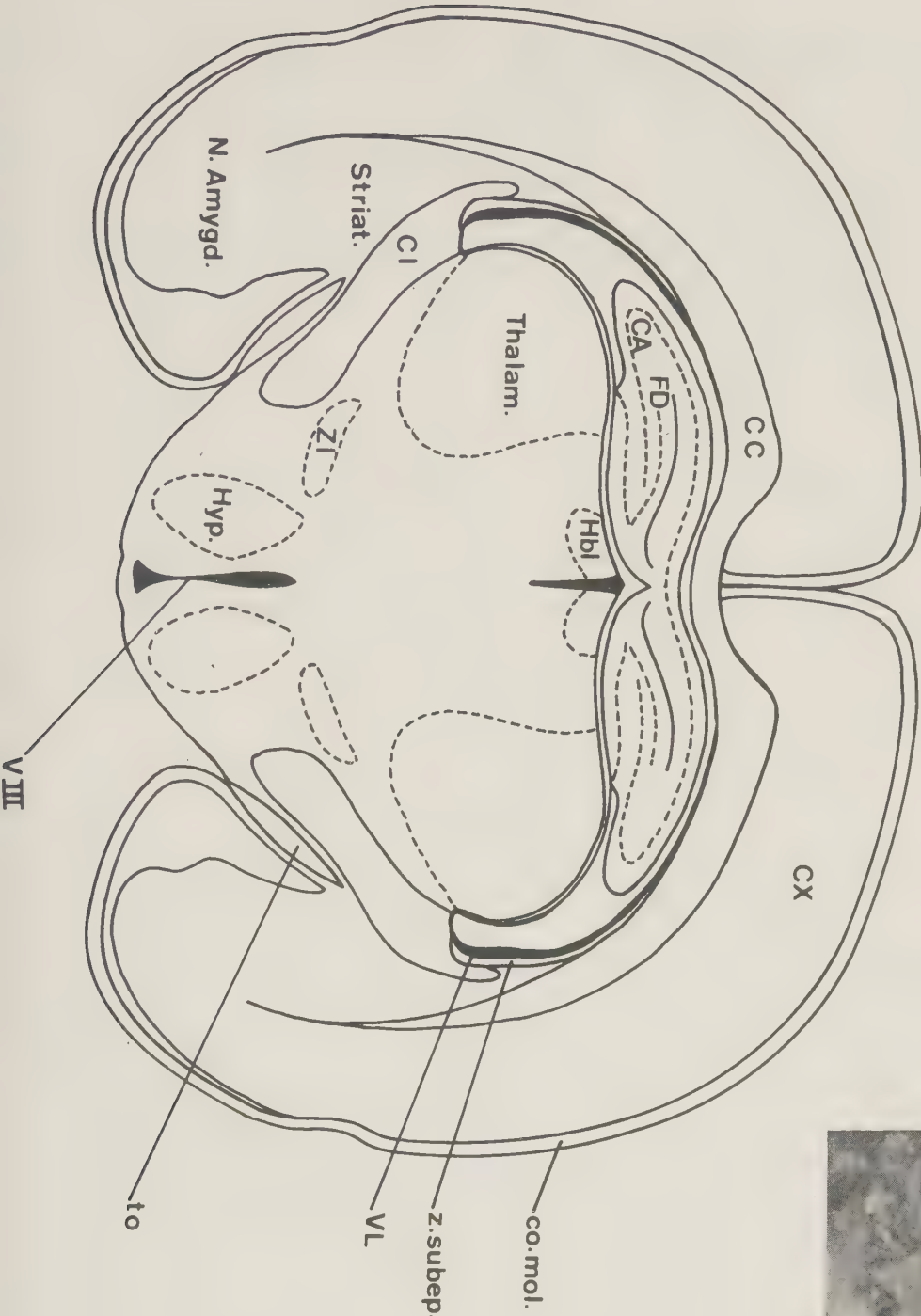
Coupe frontale du prosencéphale

Nomenclature utilisée :

Cx	cortex cérébral
co.mol.	couche moléculaire
z.subep	zone subépendymaire
VL	ventricule latéral
to	tractus optique
VIII	troisième ventricule
Hyp	hypothalamus
ZI	zona incerta
N. Amygd	noyau amygdalien
Striat	Striatum ou noyaux striés
CI	capsule interne
Thalam	thalamus
CA	corne d'Ammon
FD	fimbria
Hbl	habenula
CC	corps calleux

Le cartouche représente une portion de la région périventriculaire de la corne antérieure du ventricule latéral. Age : 20 h ; grossissement x 1500. Deux cellules marquées sont visibles.

PLANCHE 7



ke, 1968 ; Modak et al., 1972), mais en évitant des causes d'erreurs possibles (comptages sur deux coupes consécutives par exemple).

Les résultats sont exprimés sous forme de tableaux et de graphiques, après traitement statistique. Au calcul classique de l'erreur standard, s'ajoutent parfois certains tests, comme par exemple celui de Student (Schwartz, 1963) et celui de Hotelling (Anderson, 1958). Le premier est fondé sur la comparaison des moyennes ; à partir de l'hypothèse de l'égalité théorique des moyennes observées, le problème posé est traité comme une analyse de variance à deux facteurs. Quant au test de Hotelling, il est axé sur la comparaison des vecteurs moyens, à partir de l'hypothèse de leur égalité.

RESULTATS ET DISCUSSION ANALYTIQUE

1^{ère} Partie : Etude radio-autographique de la gliose de myélinisation

I - Validité de la technique radio-autographique : spécificité du marquage

Parmi les nombreuses exigences de la méthode radio-autographique, dont la plupart ont été passées en revue au chapitre Matériel et Méthodes, paragraphe II (page 16), il en est une particulièrement importante qui conditionne, à elle seule, la validité de cette méthode d'investigation : c'est la spécificité du marquage. Aussi, paraît-il normal de lui consacrer un paragraphe spécial qui, bien que caractérisé par un abord technique différent, constitue un préalable indispensable à ce travail de radio-autographie quantitative et de cinétique cellulaire (Fulcrand et al., 1968).

La molécule de thymidine tritiée est peu dégradée *in vitro*. Sa durée d'incorporation dans l'ADN est alors fonction de la durée de la phase de synthèse (phase S) des cellules se préparant à la division. En revanche, *in vivo*, la durée d'incorporation est encore liée à la durée de la phase de synthèse, mais également à la durée de la disponibilité du précurseur. En effet, dès son injection, celui-ci est soumis à des processus de dégradation et d'excrétion. Le repérage des cellules radio-actives ainsi que le nombre de grains d'argent qui les recouvrent étant fonction de ces caractéristiques d'incorporation, il est donc nécessaire de connaître, d'une

part, la destinée et le métabolisme de la molécule de thymidine tritiée pour définir son temps de disponibilité, ainsi que, d'autre part, la nature des métabolites radio-actifs dérivés qui, en s'incorporant à d'autres molécules que l'ADN, peuvent diminuer la spécificité du marquage. Divers auteurs, se basant pour la plupart sur l'observation de radio-autographies (Rubini et al., 1960 et 1962, par exemple chez l'Homme ; Altman et Chorover, 1963, chez le Chat), concluent à la brièveté de la période biologique de la thymidine tritiée (cf. 3^e chapitre, paragraphe II, 1 d, page 20). Les résultats qui vont être exposés reprennent sur d'autres bases et complètent ces constatations, en utilisant de surcroît la thymidine méthyle ^{14}C et la thymidine 2- ^{14}C pour mieux préciser l'influence du radio-isotope (^3H ou ^{14}C) et de sa place dans la molécule.

1/ Résultats

Les résultats concernent successivement la courbe de clearance plasmatique et la courbe d'élimination urinaire pour la thymidine tritiée, puis l'étude comparative des métabolites de la thymidine ^3H et de la thymidine ^{14}C .

A - Clearance plasmatique de la radio-activité pour la thymidine tritiée (Pl. 8, page 41)

Quel que soit le mode d'injection, les courbes de clearance plasmatique sont comparables dans leur forme bien que situées à des niveaux différents. Trois phases peuvent être considérées :

- une phase ascendante, caractérisée par un maximum représentatif du rendement de pénétration de la molécule dans le plasma. C'est ainsi que 3 % de la radio-activité totale injectée sont retrouvés à 32 mn dans le cas d'une injection intramusculaire, 8 % à 8 mn pour l'injection intra-

PLANCHE 8

Clearance plasmatique de la radio-activité après injection de thymidine tritiée.

Doses injectées : par voie intraveineuse, 20 μ Ci pour un rat de 300 g
par voie intrapéritonéale, 20 μ Ci pour un rat de 150 g

R ³ H	radio-activité de la thymidine tritiée
PL	plasma
IV	injection intraveineuse
IP	injection intrapéritonéale
VO	radio-activité de la fraction volatile
NVO	radio-activité de la fraction non volatile
T	radio-activité plasmatique totale, dans 0,2 g.

PLANCHE 8

mille cpm pour 0,2 g de plasma

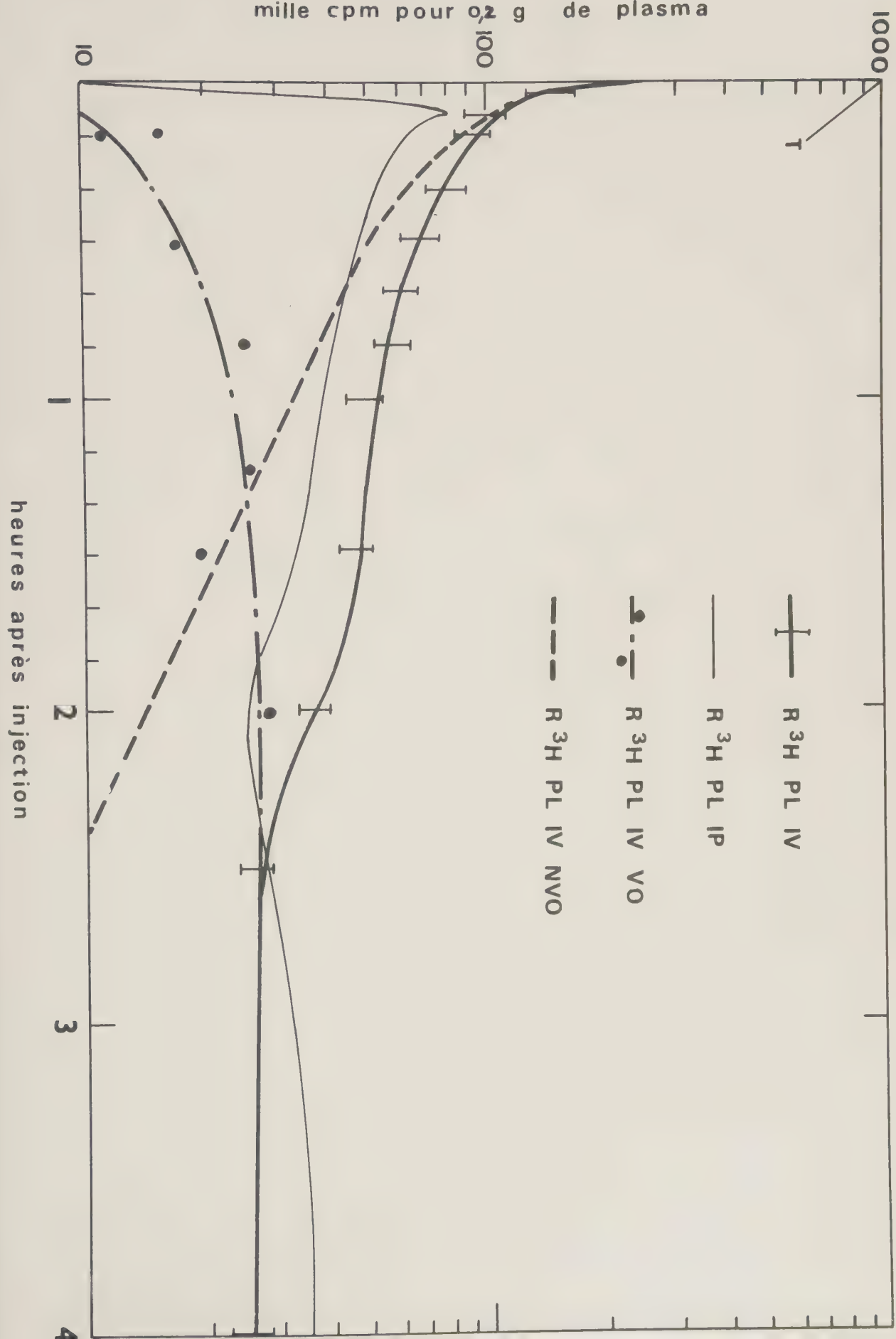


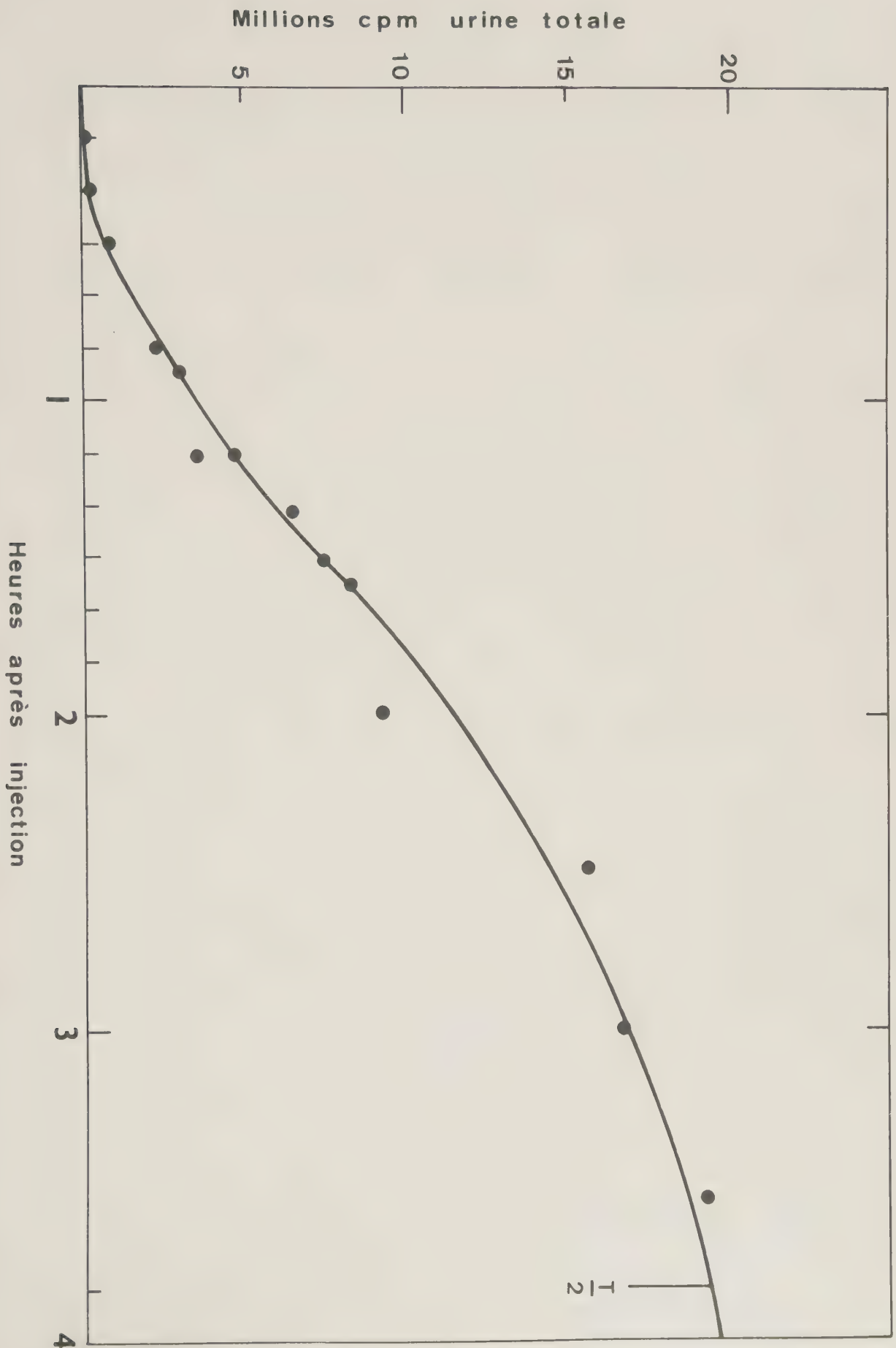
PLANCHE 9

Apparition de la radio-activité dans l'urine après injection intraveineuse de thymidine tritiée.

Dose injectée : 20 μ Ci pour un rat de 300 g.

$\frac{T}{2}$ demi-vie de la radio-activité excrétée.

PLANCHE 9



péritonéale, tandis qu'en injection intraveineuse le maximum situé à 1 mn représente 16 %.

- une phase de décroissance, d'allure généralement exponentielle, située entre le point haut et $2 \text{ h } \pm 15 \text{ mn}$ après l'injection.

- une phase faiblement décroissante, souvent précédée par une remontée de la radio-activité, la période de cette phase étant d'environ une semaine.

La comparaison entre souris et rats montre peu de différences. Lorsqu'on augmente la dose jusqu'à un maximum de 250 μCi par animal, le pourcentage de radio-activité retrouvée au point haut dans le plasma reste sensiblement constant. D'autre part, une dilution de 100 fois la dose normalement employée en injection intrapéritonéale donne une courbe de clearance plasmatique analogue à la courbe habituelle, mais caractérisée par un rendement de pénétration maximal porté à 20 % à 30 mn.

B - Elimination urinaire de la radio-activité pour la thymidine tritiée (Pl. 9, page 42)

Comme pour la clearance plasmatique, les courbes sont également comparables entre elles, quel que soit le mode d'injection. Après un palier de 20 mn, la courbe a une allure complexe. On peut l'interpréter comme la résultante de l'excrétion de molécules radio-actives de natures différentes. Au bout de 3 h 50 mn, 50 % de la radio-activité injectée sont retrouvés dans les urines, pourcentage qui correspond à la période biologique au sens habituel du terme.

C - Origine de la radio-activité

Dans la troisième phase de la courbe de clearance plasmatique, le pourcentage de radio-activité rémanente est élevé ainsi que sa période. Ce

fait justifiant l'identification de la fraction responsable, l'élimination très lente faisant penser à de l'eau tritiée. Par lyophilisation du plasma, deux fractions sont séparées, l'une volatile, l'autre non volatile.

- Fraction volatile : un dispositif de condensation ("piégeage") permet de la recueillir et de doser sa radio-activité. En pratiquant cette opération à des temps échelonnés, on constate que la radio-activité est progressivement transférée à cette fraction volatile ; au bout de 2-3 h (phase 3), toute la radio-activité plasmatique appartient à l'eau tritiée. Cette dernière tendant vers un équilibre avec l'eau totale, un calcul simple montre que près de 30 % de la radio-activité injectée se retrouvent sous forme d'eau tritiée. Corrélativement, dans les urines, la quantité d'eau tritiée devient notable au bout d'une heure environ ; à 1 h 30 mn, la fraction d'eau tritiée représente 10 % de la radio-activité excrétée. Quant à la deuxième phase, la thymidine et l'eau tritiée ne sont pas seules responsables de la radio-activité correspondante.

- Fraction non volatile : la chromatographie effectuée à partir du résidu sec montre que la molécule de thymidine n'est pas catabolisée exclusivement sous forme d'eau tritiée, mais aussi -pour nous en tenir aux métabolites principaux- en thymine et en acide β -aminoisobutyrique. Ce dernier n'est identifiable que dans le cas où le précurseur radio-actif est marqué sur le radical méthyle, la thymidine employée pour le repérage radio-autographique sur le chromatogramme étant en l'occurrence la forme ^{14}C . Il convient d'ajouter que, dans le cas de la thymidine ^{14}C , l'essentiel de la radio-activité se retrouve dans le CO_2 expiré.

Le tableau 2 suivant résume les constatations effectuées avec la thymidine tritiée, administrée par voie intraveineuse. Les résultats expriment le pourcentage de radio-activité globale retrouvée dans le plasma, le cu-

lot sanguin et l'urine, par rapport à la dose administrée.

Temps après l'injection intraveineuse	Pourcentage de radio-activité						
	Sang					Urine	Total
	Plasma		Culot	Total sang			
	fraction: volatile	fraction: non vo- latile					
10 mn	1,5	7,7	4,6	13,8	0,2	14,0±0,6	
50 mn	2,2	3,5	2,8	8,5	5,1	13,6±0,6	
1 h 15 mn	2,4	2,4	2,4	7,2	14,4	21,6±0,7	
1 h 30 mn	3	1,6	2,3	6,9	19	25,9±0,9	

Tableau n° 2

2/ Discussion

Plusieurs conclusions se dégagent de ces résultats.

A - Temps de disponibilité

Une minute après son administration intraveineuse, 80 % au moins de la radio-activité du précurseur ont quitté le compartiment sanguin. La brièveté de cette disponibilité implique que l'incorporation et le marquage cellulaire par la thymidine ^3H ou ^{14}C ne peuvent être que très rapides. Ainsi se justifie l'emploi de l'expression "flash labelling". Par ailleurs 1 h 15 mn après l'injection intraveineuse, seuls 2,4 % de la radio-activité se retrouvent sous forme non volatile, qui comporte en partie de la thymidine mais en proportion forcément faible. Toutes ces constatations convergent vers la conclusion suivante que, *in vivo*, la thymidine tritiée

permet des marquages cellulaires très limités dans le temps, d'une durée inférieure à 30 mn. Cette valeur est spécifique de la molécule de thymidine tritiée et, comme les autres caractéristiques, dépend de la nature du marqueur (Feinendegen, 1966).

B - Nature des métabolites de la thymidine tritiée

Le catabolisme de la thymidine tritiée s'effectue rapidement. Deux fractions sont identifiables dans le plasma et dans l'urine : une fraction volatile formée d'eau tritiée, abondante, mais peu active sur le plan d'une incorporation possible. 1 h 15 mn après l'injection de thymidine ^3H , la moitié de la radio-activité présente dans le plasma est déjà sous cette forme, tandis que 2 h 30 mn après l'injection, l'eau tritiée représente 95 % de la radioactivité du plasma. La clearance plasmatique de l'eau tritiée est lente et sa demi-vie se situe autour de deux semaines. Cependant, ce dernier caractère n'a aucune incidence sur le plan pratique, car l'eau tritiée peut s'éliminer facilement. L'autre fraction est non volatile, en faible quantité et à clearance plasmatique brève. Cette fraction comprend en particulier de la thymine et de l'acide β -aminoisobutyrique à demi-vie courte, caractère qui atténue considérablement les risques de marquage parasite. La courbe de clearance plasmatique (Pl. 8, page 41) serait ainsi la résultante de deux phénomènes : baisse de l'activité non volatile et augmentation de l'activité due à l'eau tritiée. Skougaard et Steward (1967) apportent des arguments similaires à partir d'une étude comparative des effets de l'injection intrapéritonéale et intramusculaire chez la Souris.

C - Processus de déméthylation et déshydrogénation

Les processus de déméthylation ne sont pas particulièrement responsables de l'apparition de la radio-activité dans d'autres fractions, com-

me le montre la convergence des résultats obtenus avec la thymidine méthyle ^{14}C et avec la thymidine 2- ^{14}C . Compte tenu de ce dernier fait et de la demi-vie de la radio-activité injectée, évaluée à 3 h 50 mn, la réutilisation du radical méthyle est à peu près inexistante, d'autant plus que, entre 0 et 3 heures, aucune radio-activité n'est liée aux protéines du plasma. En revanche, la thymidine ^{14}C met en évidence une radio-activité liée aux éléments figurés du sang, probablement en rapport avec des phénomènes d'adsorption. A propos de la thymidine ^{14}C , l'importance quantitative de la radio-activité liée au CO_2 expiré confirme les constatations de Potter (1959), et de Kriss et al. (1965).

Au contraire, la déshydrogénation est importante. La labilité de l'atome d'hydrogène permet de comprendre l'abondance de l'eau tritiée, la déshydrogénation s'effectuant soit par échange isotopique, soit par des processus métaboliques, liés également à l'environnement biologique et physique, tels que la température et le pH. L'influence de celui-ci n'est pas négligeable, dans des conditions pathologiques notamment (Wyllie et al., 1973).

D - Incorporation de la thymidine

Compte tenu de la radio-activité présente dans le plasma, dans l'urine et dans l'eau totale du corps, les bilans montrent que, dans le cas le plus favorable, seuls 15 à 20 % de la thymidine ont pu être incorporés. En ce qui concerne la réutilisation éventuelle de thymidine, qui peut survenir à l'occasion de la mort d'une cellule marquée par exemple, elle serait faible et l'on peut généralement la négliger (Feinendegen et al., 1962), ainsi que le marquage qui lui est associé.

II - Identification et quantification histologiques des cellules névro- gliques

Il est difficilement concevable de réaliser un travail qualitatif et quantitatif sur la cinétique des populations névrogliques sans connaître la nature des éléments mobilisés au cours de ces phénomènes de multiplication cellulaire. C'est la raison pour laquelle l'identification des cellules névrogliques a été entreprise dans une structure dépourvue de neurones, le tractus optique, portion rétrochiasmatique du système afférent visuel (Fulcrand et Marty, 1973). Certes, l'identification des populations névrogliques a déjà fait l'objet d'un nombre important de publications dont les principales, faisant suite aux travaux fondamentaux de Ramon y Cajal (1911 et 1913) ; Del Rio Hortega (1928 et 1932) et Penfield (1932), seront citées : dans le domaine microscopique celles de Kryspin-Exner (1943) ; Glees (1955 et 1968) ; Farquhar et Hartmann (1957) ; Schultz et al. (1957 et 1964) ; Palay (1958) ; De Robertis et al. (1960) ; Mugnaini et Walberg (1964) ; Pessacq (1964) ; Polak (1965) ; Cammermeyer (1966 a et b, 1970) ; Wendell-Smith et al. (1966) ; Bunge (1968) ; Caley et Maxwell (1968) ; Fleischhauer (1968 a et b) ; Hirano (1968) ; King (1968) ; Stensaas et Stensaas (1968) ; Vaughn et Peters (1968 et 1971) ; Robain (1969) ; Vaughn (1969) ; Friede (1970) ; Inoué (1970 et 1971) ; Wolff (1970) ; Griffin et al. (1972) ; Ribadeau-Dumas et Poirier (1972 a et b) ; Valenzuela y Chacón (1972), dans les domaines histochimique et neuropathologique celles de Collewijn et Schade (1965) ; Sjöstrand (1965 et 1966) ; Wender et al. (1969) ; Blunt et al. (1971) ; Fernando (1971) ; Trumpy (1971), et, en radio-autographie, celles ^{de} Messier et al. (1960) ; Smart et Leblond (1961) ; Altman (1962 et 1966) ; Noetzel et Siepmann (1965) ; Hommes et Leblond (1967) ;

Mori et Leblond (1969 a et b, 1970) ; Privat (1970) ; Skoff et Vaughn (1971). Cette liste, volontairement incomplète, est longue. Mais, malgré la somme de travaux qui y sont rassemblés, de nombreuses controverses persistent quant à la nature des cellules névrogliales. Dans ces conditions, une étude personnelle était justifiée. Entreprise au cours des étapes successives de la maturation postnatale du tractus optique chez le Rat, elle a été basée sur l'analyse quantitative en microscopie optique des populations cellulaires, en tenant compte des déterminations qualitatives résultant de l'observation de coupes semi- et ultra-fines.

1/ Résultats

Toutes les cellules -soit 13.935 au total- appartenant exclusivement au tractus optique, sont comptabilisées en fonction de leurs ressemblances morphométriques et morphologiques. L'identification s'effectue sous objectif 100, permettant un grossissement efficace de 1000 fois (Raine et al., 1971). Trois catégories de cellules névrogliales se dégagent à partir de leurs caractéristiques caryologiques, le cytoplasme peu important étant en effet le plus souvent indistinct.

Ces trois catégories sont :

- les oligodendrocytes, répartis en trois classes -grands, moyens et petits-.
- les astrocytes.
- les autres variétés cellulaires, comprenant la microglie interstitielle et périvasculaire, ainsi que des cellules qualifiées d'indéterminées.

La surface des noyaux est calculée à partir des deux dimensions médianes.

A - Oligodendrocytes (Pl. 10, fig. a-d ; Pl. 11, fig. a-d)

Les *oligodendrocytes* présentent généralement un contour régulier, rond ou ovale, en fonction du plan de section.

- Les grands oligodendrocytes (Pl. 10, fig. a-d, page 51) ont une surface nucléaire supérieure à $48 \mu\text{m}^2$; leur nucléoplasme est clair le plus souvent et parsemé de quelques gros amas de chromatine. Le nucléole se distingue presque toujours nettement.

- Les oligodendrocytes moyens (Pl. 10, fig. a-d ; Pl. 11, fig. a-c, page 52), dont la surface se situe entre 33 et $48 \mu\text{m}^2$, ont généralement un nucléoplasme foncé.

- les petits oligodendrocytes (Pl. 10, fig. d ; Pl. 11, fig. a-c, page 52) ont une surface à peu près circulaire, variant entre 15 et $33 \mu\text{m}^2$; leur nucléoplasme basophile est très foncé et entouré par une membrane nucléaire bien distincte. Comme les précédents, les petits oligodendrocytes peuvent constituer des alignements cellulaires caractéristiques (Pl. 11, fig. b, page 52). Quelquefois, une courte expansion cytoplasmique, plus ou moins floue, se détache à un pôle de leur noyau.

B - Astrocytes

Les *astrocytes* (Pl. 12, fig. a-d, page 53), dont le contour n'est pas toujours régulier, ont une surface variable. Leur nucléoplasme est clair avec une chromatine relativement homogène, finement granuleuse en son centre, tandis que des agrégats de chromatine plus volumineux se disposent à la périphérie, accusant la membrane nucléaire à ce niveau. La distinction avec les grands oligodendrocytes est particulièrement difficile, même dans une structure dépourvue de neurones (Pl. 13, fig. b et c, page 54) et de cellules épendymaires comme le tractus optique ; cette discrimination

PLANCHE 10

Les oligodendrocytes

Caractéristiques techniques généralement utilisées pour l'ensemble des planches histologiques, chez l'animal normal : violet de crésyl ; éclairage mixte.

Figure a : Grand oligodendrocyte (g.ol.)

âge : 7 jours et demi ; grossissement x 6450

nucl : nucléoplasme clair avec amas de chromatine foncés

Figure b : Oligodendrocytes grand et moyen (m.ol.)

âge : 4 jours et demi ; grossissement x 3750

Une cellule indéterminée (cel.i.) est visible au bas de la photographie.

Figure c : Oligodendrocytes grand et moyen

âge : 9 jours ; grossissement x 3300

Figure d : Les trois types d'oligodendrocytes sont représentés avec leurs dimensions caractéristiques.

âge de l'injection : 2 jours et demi ; délai de survie : 11 j ; grossissement x 3000.

p.ol. : petit oligodendrocyte. Une cellule marquée apparaît au-dessous de l'oligodendrocyte moyen.

PLANCHE 10

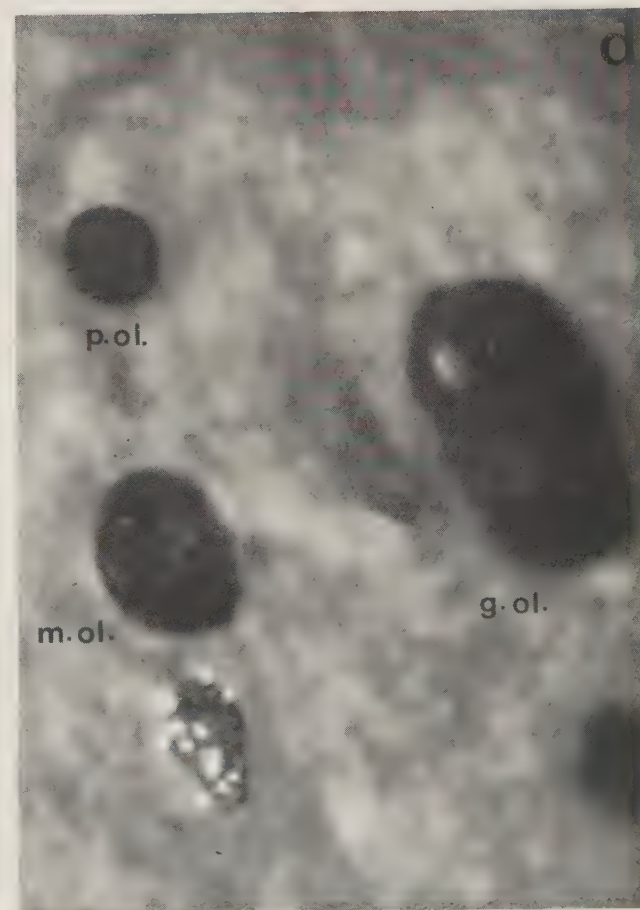
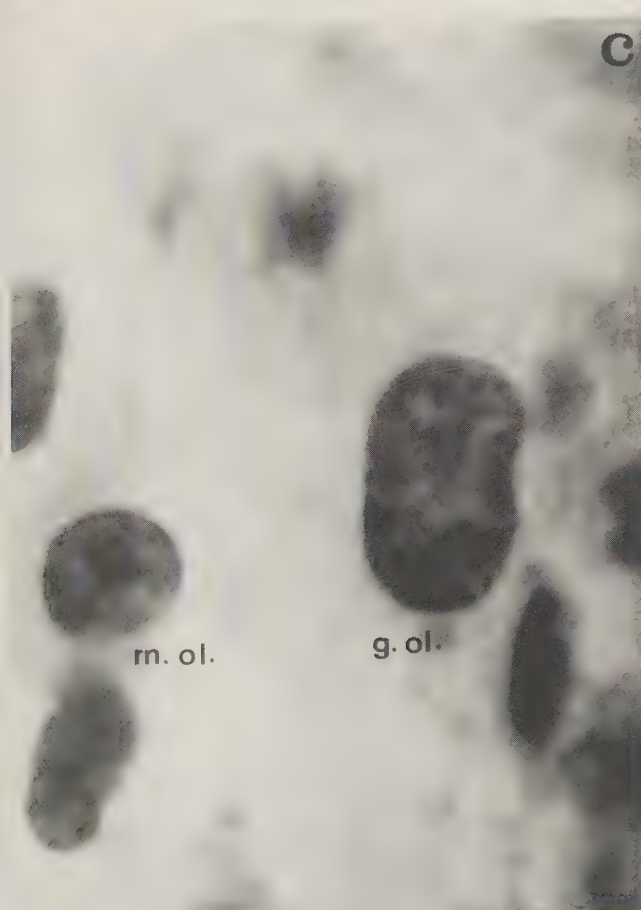
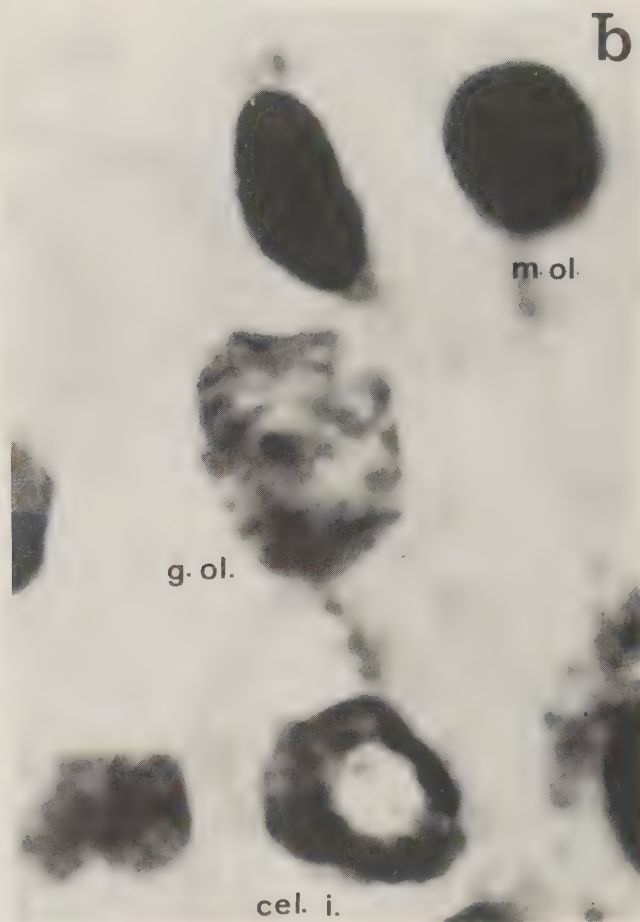
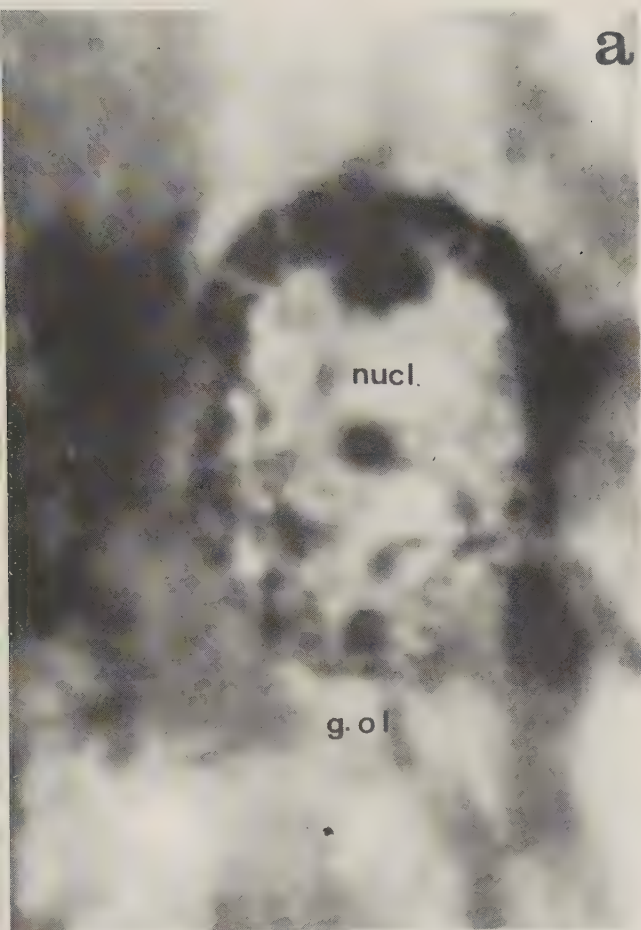


PLANCHE 11

Oligodendrocytes et astrocytes

Figure a : Plage de cellules névrogliques avec oligodendrocytes grand et moyen.

âge : 4 jours et demi ; grossissement x 2000

Figure b : Alignements cellulaires caractéristiques. Sur l'un d'eux, un petit oligodendrocyte et une cellule en division, stade anaphase (ana), apparaissent nettement.

âge : 5 jours et demi ; grossissement x 2050

Figure c : Groupe cellulaire comprenant des oligodendrocytes, petits et moyens, et un stade métaphase (mét.).

âge : 11 jours et demi ; grossissement x 2020

Figure d : Astrocytes (As). L'un des trois est marqué.

âge : 11 jours et demi ; grossissement x 2700

PLANCHE 11

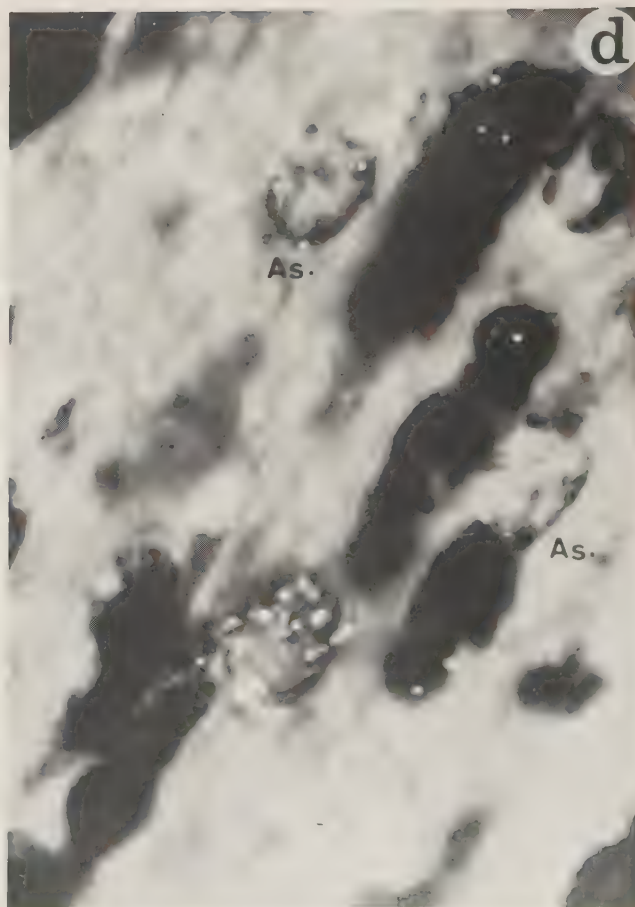
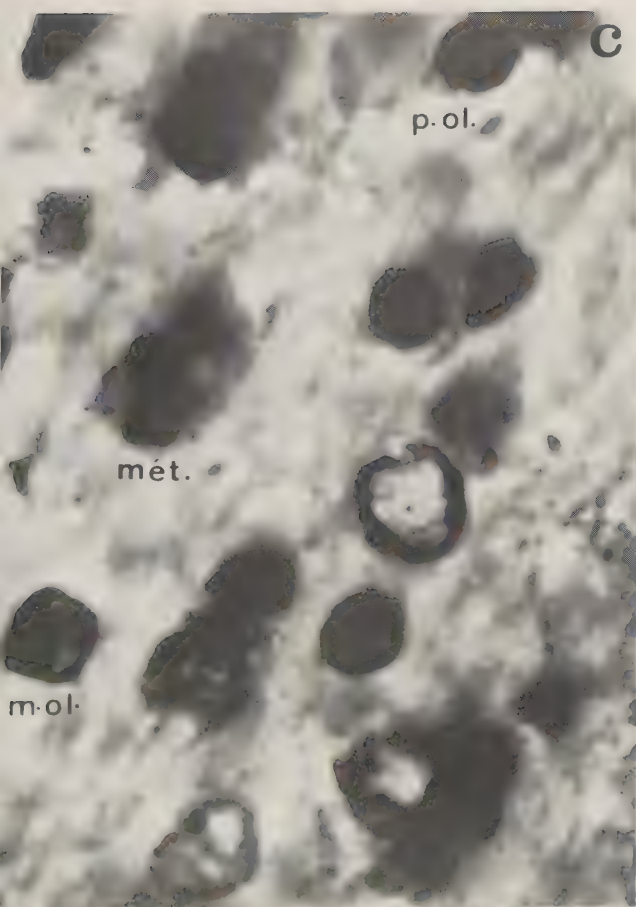
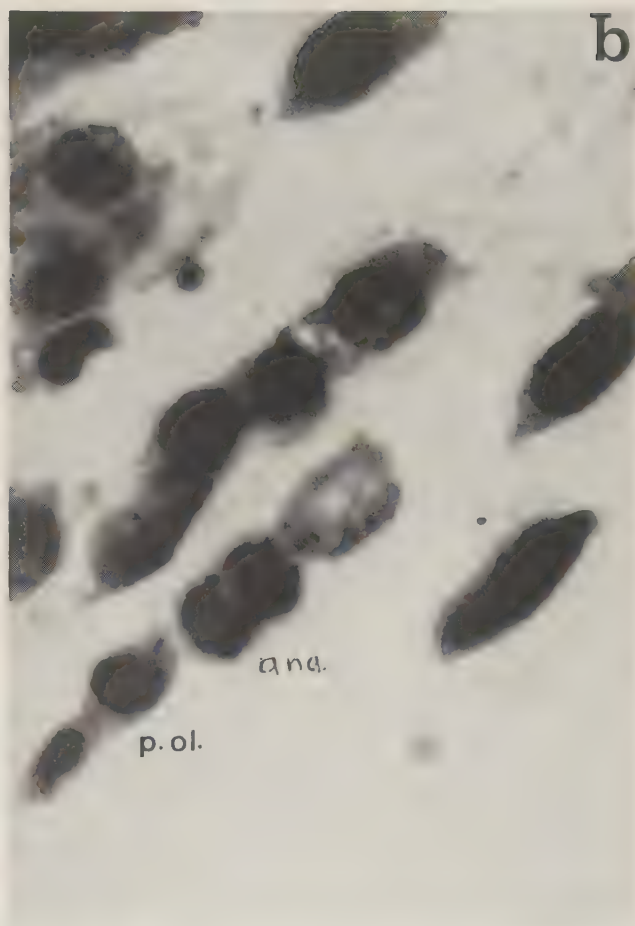
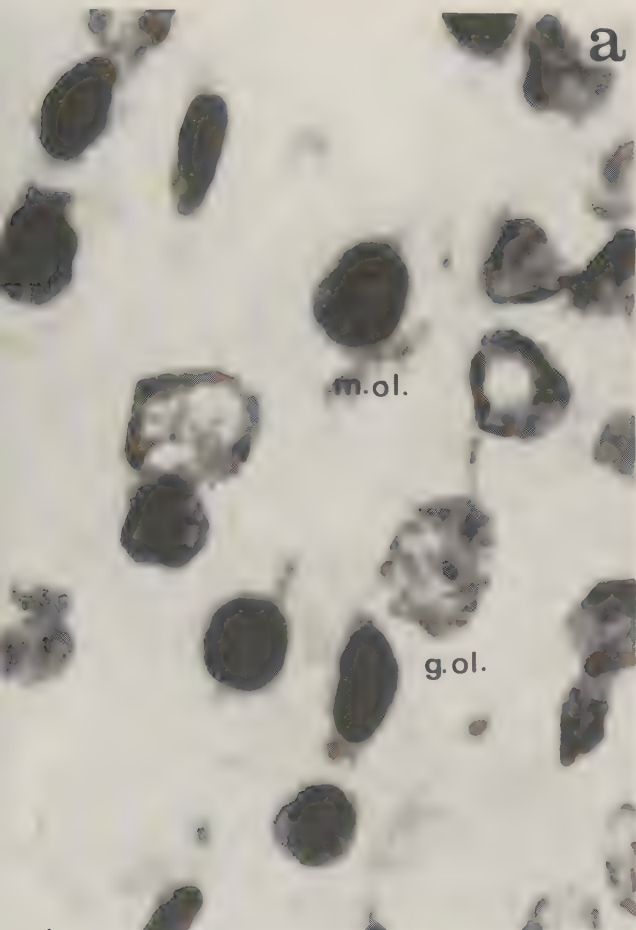


PLANCHE 12

Astrocytes

Figure a : Astrocytes avec le nucléoplasme clair et des amas de chromatine disposés à la périphérie du noyau.

âge : 4 jours et demi ; grossissement x 3100

Figures b, c et d : Alignements de cellules névrogliques comportant des astrocytes marqués (As. *).

âge de l'injection : 2 jours et demi ; délai de survie : 2 jours.
grossissements x 2750, 2950 et 2850 respectivement.

Les grains d'argent apparaissent sombres (éclairage par transmission) ou clairs (éclairage mixte).

PLANCHE 12

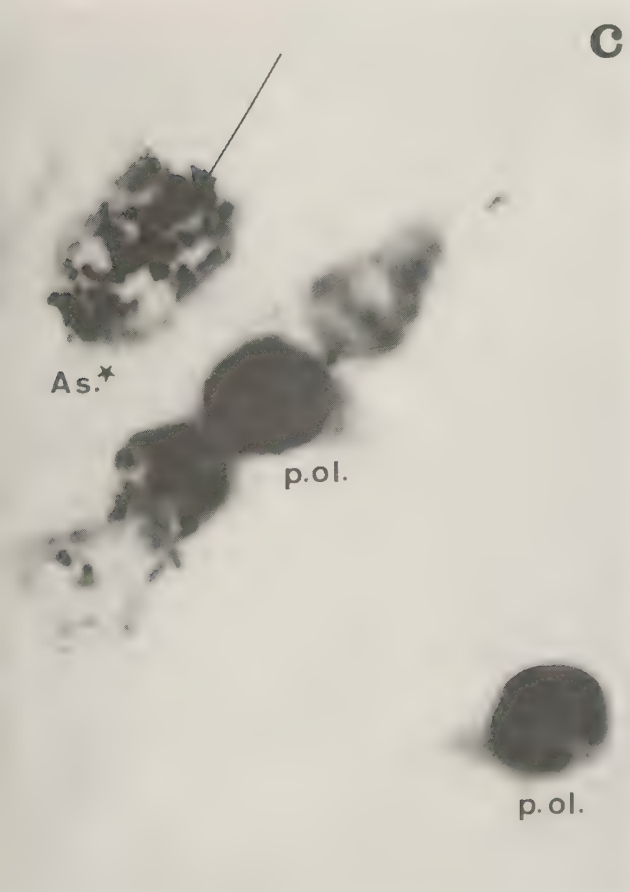
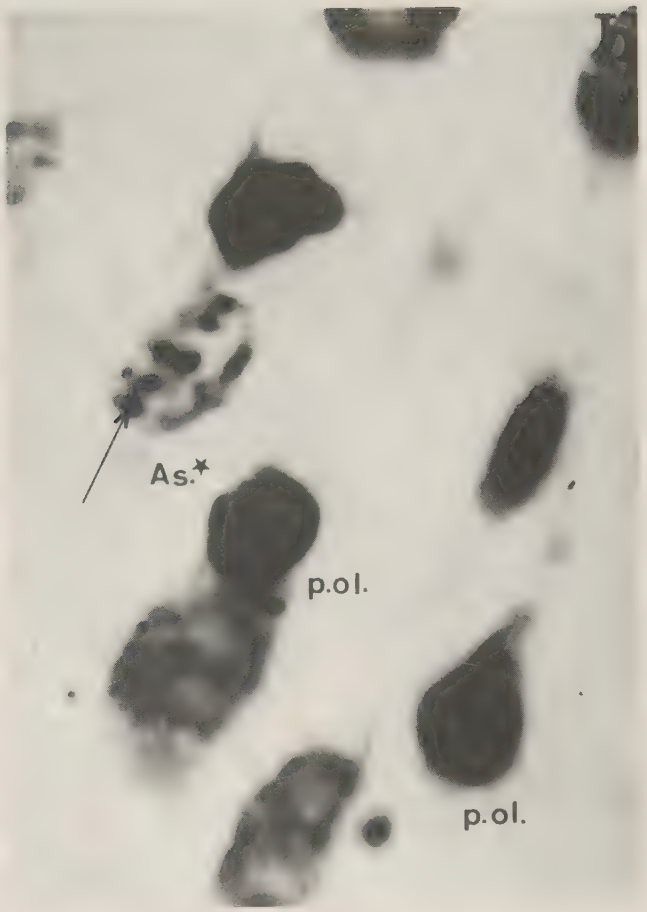
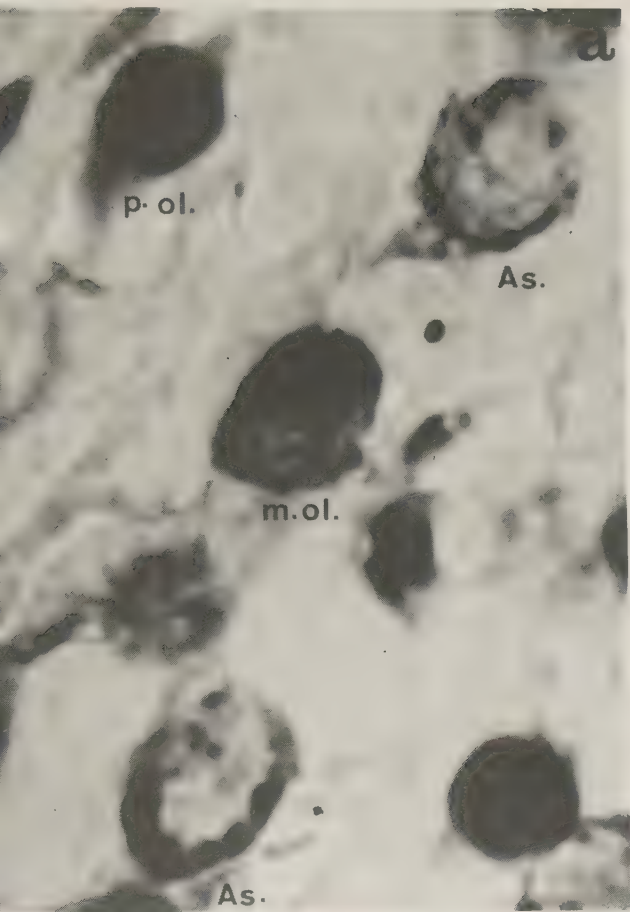


PLANCHE 13

Autres types cellulaires (thymidine ^3H ; émulsion K₂ Ilford)

Figure a : Cellules microgliales adventicielles

âge de l'injection : 2 jours et demi ; délai de survie : 2 jours
grossissement x 2700

Figure b : Cellule névroglique marquée, satellite d'un neurone dans le diencéphale.

âge de l'injection : 2 jours et demi ; délai de survie 11 jours ;
grossissement x 2900

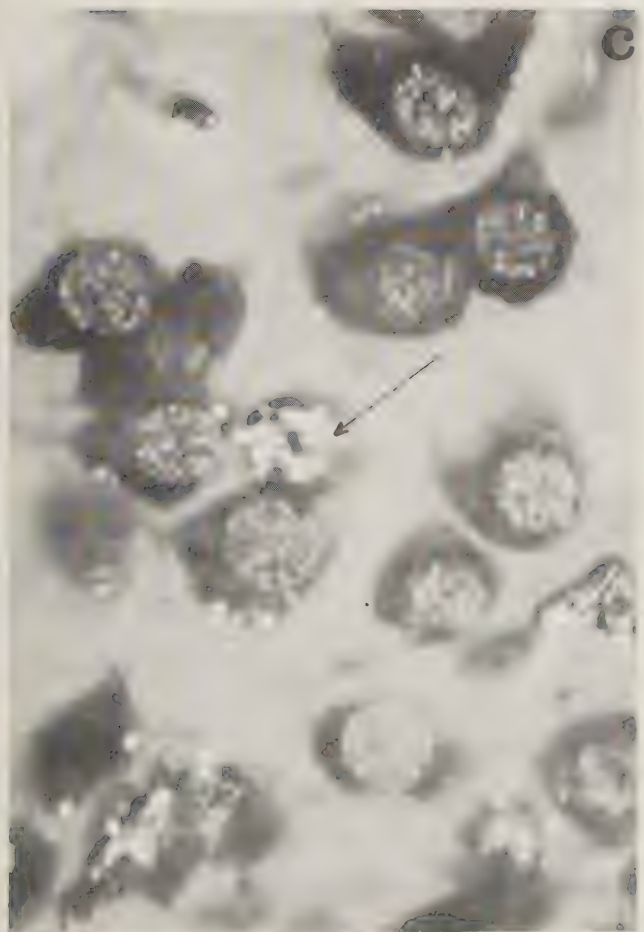
Figure c : Région du cortex cérébral présentant un petit oligodendrocyte marqué au milieu de neurones ; ces derniers sont caractérisés par un cytoplasme bien différencié.

âge de l'injection : 2 jours et demi ; délai de survie : 11 jours ;
grossissement x 2400

Figure d : Artéfact de marquage.

Les grains d'argent sont groupés de façon caractéristique en une masse très lumineuse sous le microscope. Grossissement x 2900

PLANCHE 13



est d'autant plus malaisée qu'elle s'effectue aux premiers stades du développement postnatal. Une observation attentive permet cependant d'y parvenir dans la plupart des cas.

C - Autres variétés cellulaires (Pl. 13, fig. 1)

La *microglie* se différencie par son noyau allongé, à contour irrégulier très foncé. Les *cellules adventicielles* ou *péricytes*, pour leur part, tapissent normalement les parois vasculaires. A cette catégorie s'ajoutent des cellules qui, en raison des particularités morphologiques de leur noyau, évoquent des formes transitoires, immatures ou relevant d'artéfacts (Pl. 10, fig. d, page 51).

D - Quantification des diverses catégories de cellules névrogliques

Les valeurs obtenues, cumulées, caractérisent la période s'étendant de 2 jours et demi à 20 jours après la naissance. Elles sont résumées sur le tableau 3.

·	·	·	·
·	Catégorie cellulaire	·	·
·	·	·	·
·	·	·	·
·	·	·	·
·	grands oligodendrocytes	·	·
·	·	·	·
·	moyens oligodendrocytes	·	·
·	·	·	·
·	petits oligodendrocytes	·	·
·	·	·	·
·	astrocytes	·	·
·	·	·	·
·	autres cellules	·	·
·	·	·	·
·	total	·	·
·	·	·	·

Tableau n° 3

Ce tableau révèle un certain nombre de faits. Les grands oligodendrocytes sont très peu nombreux, ne formant que 0,80 % de l'ensemble des cellules. Les moyens oligodendrocytes représentent un peu plus du dixième, tandis que les petits oligodendrocytes constituent de loin la partie la plus importante de la population névroglique. Le nombre d'astrocytes est, quant à lui, intermédiaire entre celui des oligodendrocytes moyens et celui des autres variétés cellulaires.

Cette investigation analytique est complétée par une étude graphique, concernant l'évolution du pourcentage des différentes catégories cellulaires en fonction de l'âge de l'animal (fig. 21, page 80). Elle met en évidence pour chacune des catégories envisagées une distribution moyenne régulière autour des valeurs correspondantes indiquées sur le tableau 3.

Un dernier aspect de nos observations concerne les modalités de la division cellulaire. Les figures mitotiques ne sont pas rares et observées à tous les stades de la division (Pl. 14, fig. a-c, page 57; Pl. 15, fig. a-c, page 58). Certaines images évoquent, pour leur part, la possibilité d'un processus de division amitotique (Pl. 15, fig. d, page 58).

2/ Discussion

Les résultats enregistrés conduisent à trois ordres de commentaires, portant successivement sur l'identité des cellules névrogliques, leurs pourcentages respectifs et le rôle qu'elles jouent dans certaines étapes du développement.

A - Oligodendrocytes

Conformément aux critères proposés par Mori et Leblond (1969 a et b, 1970) et repris récemment par Ling et al. (1973), dans le cadre d'observa-

PLANCHE 14

*Divisions cellulaires (éclairage par transmission ; grossissement
x 4500, généralement)*

Figure a : Stades caractéristiques de la métaphase

Figure b : Stades caractéristiques de l'anaphase

Figure c : Stades caractéristiques de la télophase

PLANCHE 14

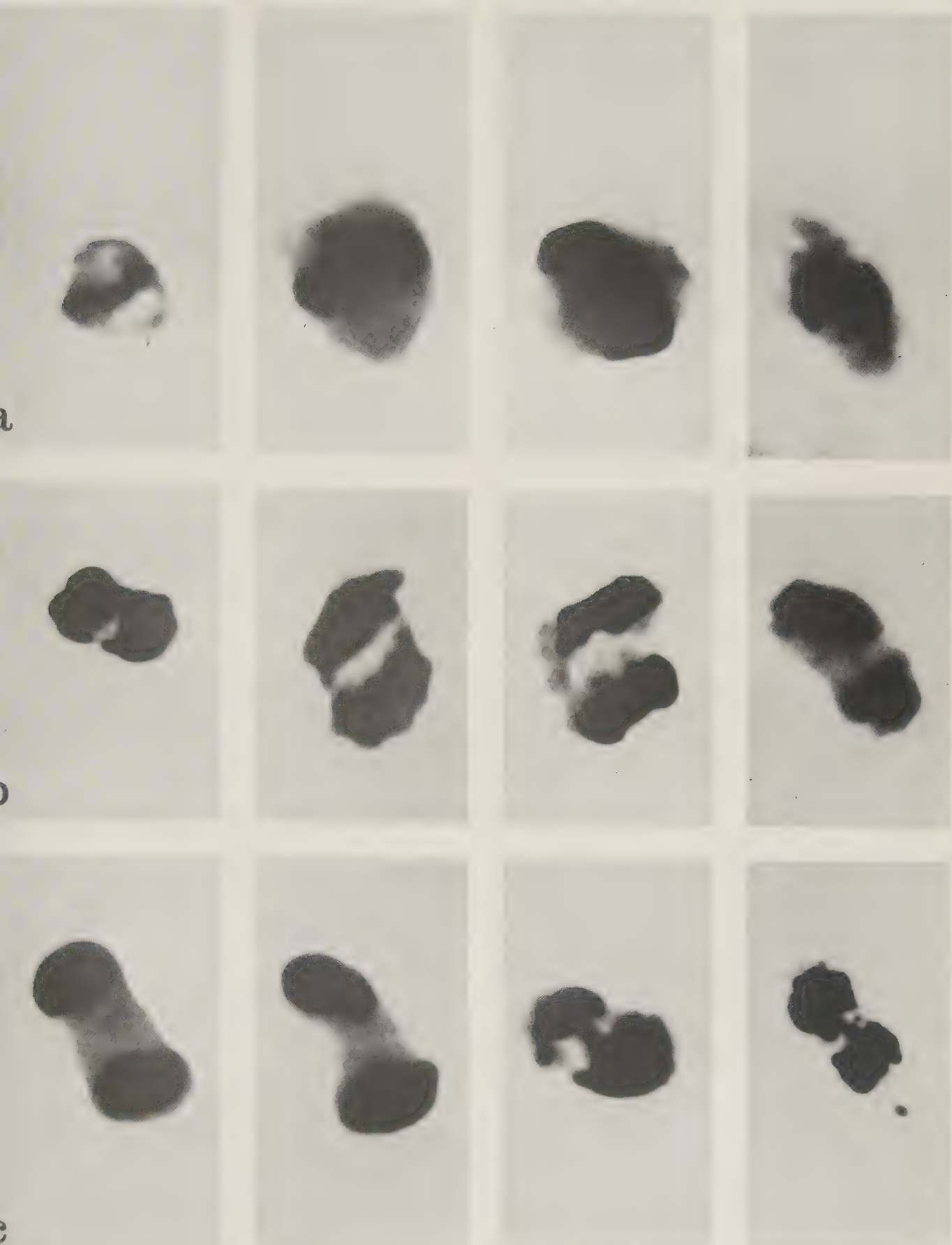


PLANCHE 15

Autres formes de la division cellulaire (éclairage par transmission)

Figure a : Stade métaphase

âge : 7 jours et demi ; grossissement x 3000

Figure b : Stade en rosette

âge : 9 jours ; grossissement x 4500

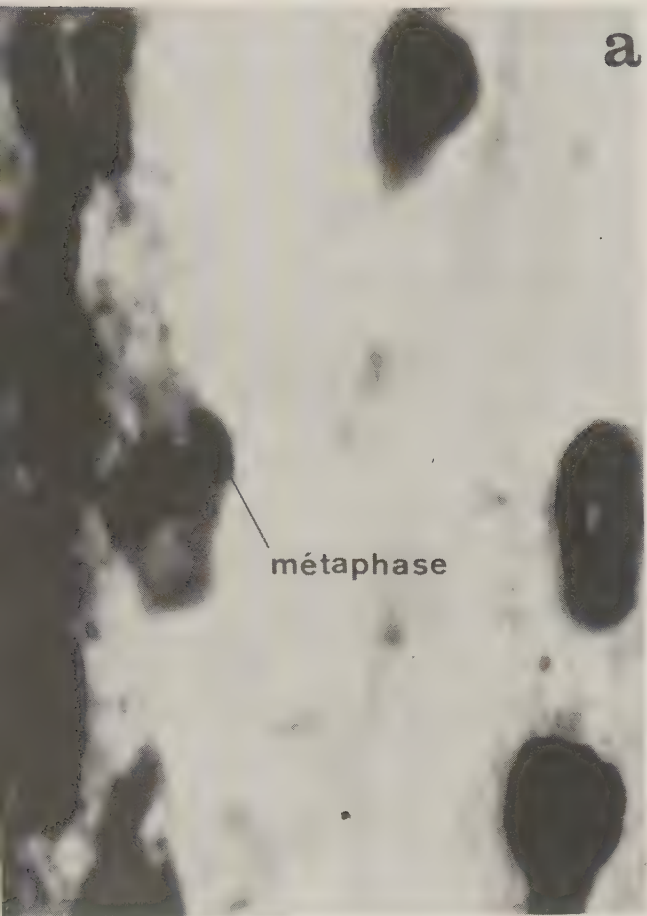
Figure c : Cellule en voie de division, dont une partie porte 4 grains d'argent.

âge : 16 jours ; grossissement x 6000 ; éclairage mixte.

Figure d : Age 9 jours ; grossissement x 4720

Cette division évoque un processus amitotique.

PLANCHE 15



tions microscopiques d'ordres optique (imprégnations argentiques et coupes semi-fines) et électronique, les oligodendrocytes se répartissent effectivement en trois classes. Les dimensions du noyau converties en surface et ses caractéristiques morphologiques constituent l'élément distinctif principal ; le cytoplasme peut néanmoins, dans quelques cas, favoriser l'identification.

B - Astrocytes

En principe, les particularités convergentes du nucléoplasme et de la distribution périnucléaire de la chromatine devraient suffire à individualiser cette deuxième classe de cellules. La distinction entre astrocytes et grands oligodendrocytes reste cependant délicate. Deux critères permettent selon nous d'y parvenir : les dimensions supérieures du noyau, ainsi que le nombre relativement plus élevé des amas de chromatine chez ces derniers.

C - Autres variétés cellulaires

Malgré les doutes émis par certains auteurs sur l'existence même de la microglie (Malmfors, 1963 ; Maxwell et Kruger, 1966 ; Vaughn et Peters, 1968), dont l'origine -ectodermique (cellules épendymaires) ou mésenchymateuse (sang et liquide céphalo-rachidien)-, la nature et la transformation pathologique sont actuellement plus que jamais discutées (Baron et Gallego, 1972 ; Brichova, 1972 ; Matthews et Kruger, 1973), quelques faits morphologiques et topographiques justifient le maintien de cette catégorie cellulaire, tout au moins dans le tractus optique. Les tout derniers résultats de Paterson et al. (1973) confirment nettement cette existence dans le corps calleux chez le Rat. D'autres types cellulaires, à la fois peu nombreux et disparates, sont classés avec la microglie pour des rai-

sons de simplification. Ces types cellulaires comprennent des formes transitoires (Ramon-Moliner, 1958 ; Noetzel et Siepmann, 1965 ; Vaughn, 1969 ; Fox et Rafols, 1972), des cellules encore indifférenciées ou immatures (Mitrova, 1967) et enfin des éléments qui, par suite d'artéfacts liés à la fixation ou à la coloration (Mugnaini et Walberg, 1964 ; Blenk, 1969), ne peuvent être rattachés à une des classes précédentes.

D - Quantification des diverses catégories de cellules névrogliques

En valeur absolue, les petits oligodendrocytes constituent de beaucoup la part la plus importante de la population névroglique (près de 70 %). A l'exception des grands oligodendrocytes qui représentent la fraction numérique la plus faible (inférieure à 1 %), les autres catégories cellulaires se trouvent en proportions comparables, autour de 10 %. Exprimées en pourcentage, les valeurs trouvées dans le tractus optique du Rat sont analogues à celles indiquées par Matthews et Duncan (1969, 1970 et 1971) dans les faisceaux cuneatus, gracilis et cortico-spinal de la moelle épinière chez ce même animal, et similaires globalement à celles mentionnées par Mori et Leblond dans le corps calleux. Il est intéressant de noter que ces pourcentages caractéristiques de la substance blanche sont différents de ceux de la substance grise. C'est ainsi que Mori et Hama (1971), Mori (1972) puis Ling et Leblond (1973) trouvent dans le cortex cérébral du Rat moins d'oligodendrocytes et davantage d'astrocytes, entre autres, que dans le corps calleux. En revanche, l'analyse quantitative effectuée par Vaughn (1969) dans le nerf optique du Rat n'est pas superposable à la nôtre. En effet, aux divers stades postnataux de la gliogenèse, le nombre des astrocytes dans le nerf optique serait, par comparaison avec nos résultats, plus élevé. C'est ainsi que, vers le dixième jour après la naissance, le

nombre des astrocytes atteint 45 % dans le nerf optique alors qu'il n'est que de 11 % dans le tractus. Cette différence s'explique vraisemblablement par le rôle particulier dévolu aux astrocytes dans la septalisation du nerf optique.

D'ores et déjà, la comparaison des pourcentages cellulaires, nettement en faveur des oligodendrocytes en général, permet de dégager le rôle essentiel attribué à ces éléments dans la myélinisation des fibres nerveuses. L'analyse qualitative et quantitative des radio-autographies correspondantes, et l'étude de l'évolution en fonction de l'âge des multiplications névrogliales (Pl. 21 et 22) qui sont examinées plus loin, confirmeront de façon indubitable cette fonction oligodendrocytaire.

III - Prolifération névroglie au niveau du prosencéphale

Les études qualitatives et quantitatives de la prolifération névroglie sont peu nombreuses et le plus souvent fragmentaires, comme cela a été annoncé dans l'introduction. Aux travaux déjà cités de Leblond et al. (1961, 1967, 1969, 1970 et 1973), Noetzel et Siepmann (1965), Altman (1966), Vaughn (1969), Matthews et Duncan (1971), ajoutons ceux de Sakla (1965), Shimada (1966), Dalton et al. (1968), Hinds (1968), Schonbach et al. (1968), Haas et al. (1970), Gimore (1971), Kraus-Ruppert et al. (1973), Korr et al. (1973), ainsi que ceux plus antérieurs de Manuelidis et Manuelidis *in vitro* (1971).

La quantification systématique de la prolifération névroglie est effectuée dans l'ensemble des sept structures constituant le cerveau antérieur chez le Rat (Pl. 7, page 37), au cours de la période postnatale s'étendant de 20 h à 47 jours (Fulcrand et al., 1970 ; Fulcrand et Marty, 1970).

1/ Résultats

Des cartes de répartition des cellules névrogliques marquées, obtenues par la méthode de cartographie et de photométrie combinées (Pl. 16, fig. a et b, page 63) et des représentations graphiques sont établies (Pl. 17, fig. a-d, page 64 ; Pl. 18, fig. a-d, page 65). Parallèlement à l'évolution du nombre de cellules marquées, leur densité (nombre de cellules par cm^2) est déterminée pour tenir compte de l'augmentation volumétrique différentielle des structures analysées.

PLANCHE 16

Cartes de répartition des cellules névrogliales marquées dans l'ensemble du prosencéphale, obtenues par la méthode de photométrie et cartographie combinées.

Figure a : âge : 16 jours.

Figure b : âge : 47 jours

PLANCHE 16

a

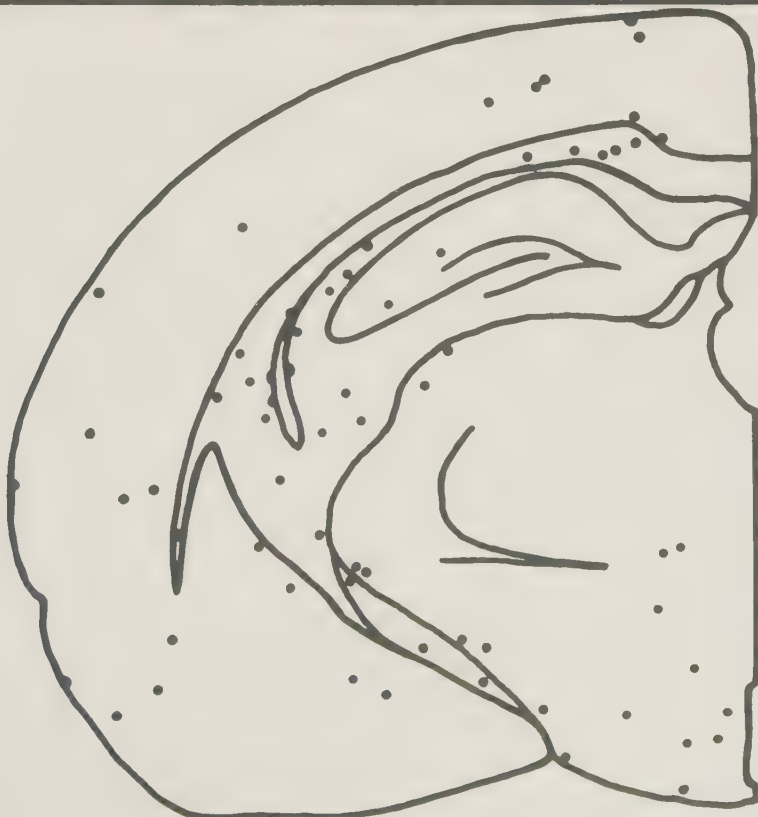
16 JOURS



5 m m

b

47 JOURS



5 m m

PLANCHE 17

Représentations graphiques de l'évolution du nombre et de la densité des cellules névrogliques marquées en fonction de l'âge de l'animal, pour les différentes structures du cerveau antérieur.

Figure a : Cortex cérébral

Figure b : Corps calleux

Figure c : Région subépendymaire.

La courbe de densité n'est pas représentée en raison de ses valeurs élevées, non compatibles avec l'échelle utilisée.

Figure d : Rhinencéphale dorsal.

L'erreur standard est figurée, pour le nombre de cellules marquées de chacune des structures, par les traits verticaux.

PLANCHE 17

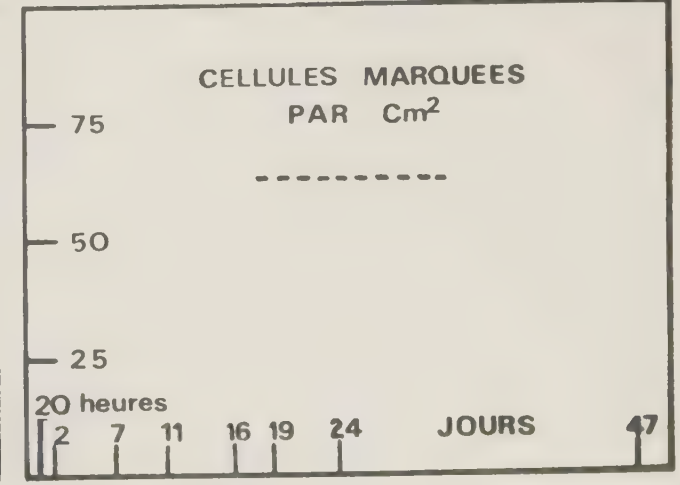
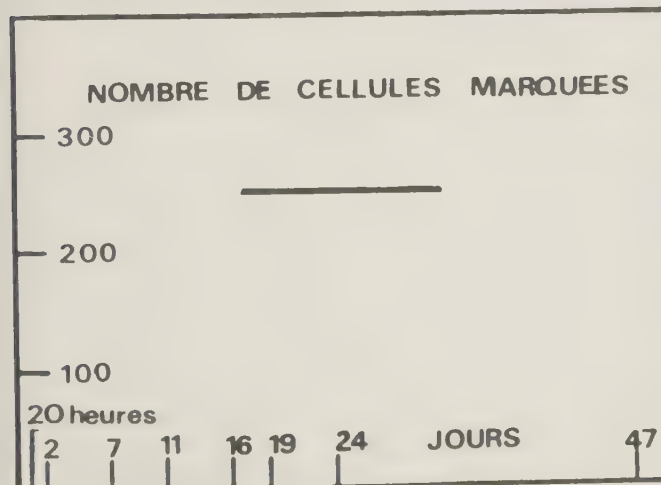
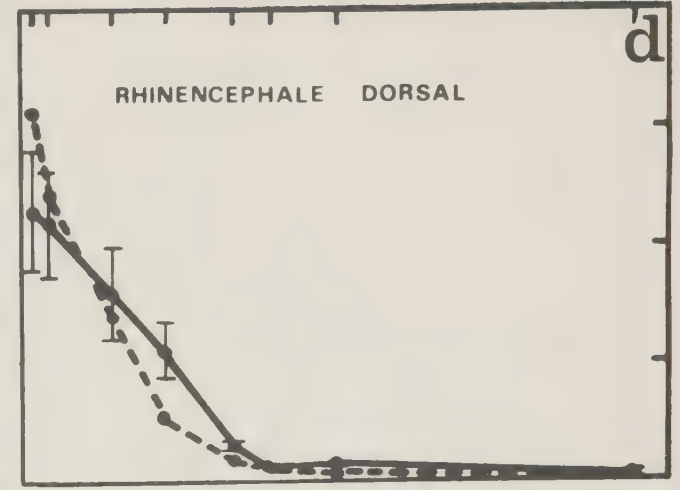
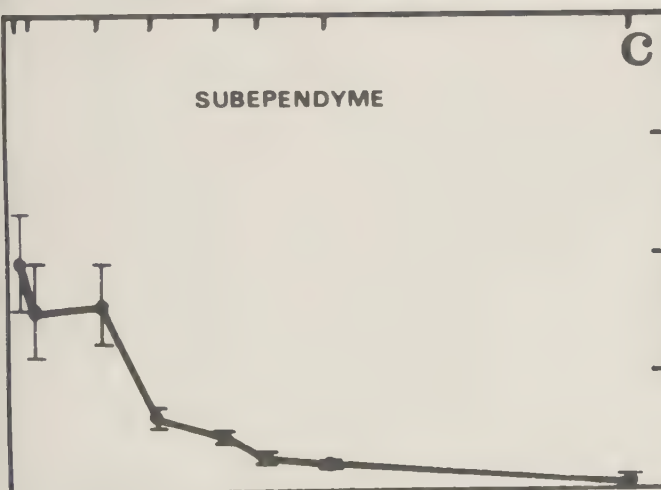
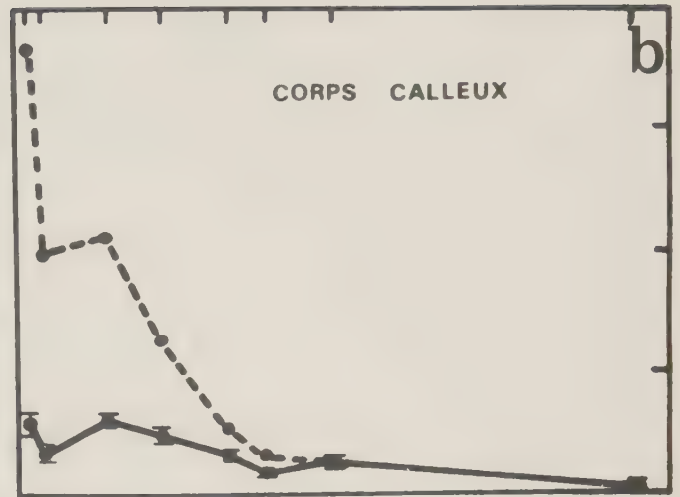
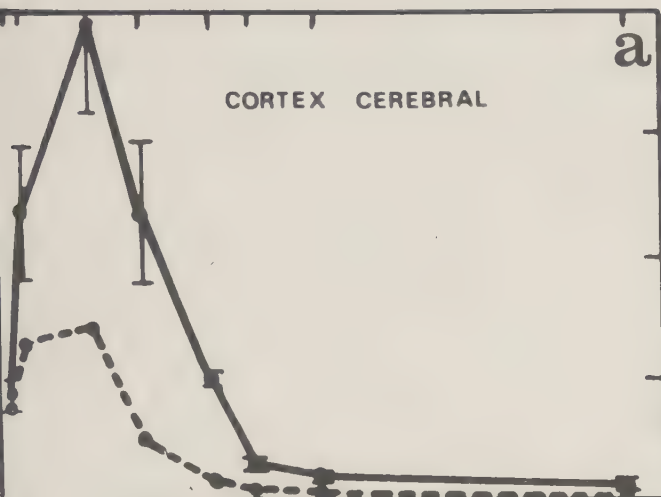


PLANCHE 18

Complément des représentations graphiques de l'évolution du nombre et de la densité des cellules névrogliques marquées en fonction de l'âge de l'animal et courbes cumulées.

Figure a : Rhinencéphale ventral et complexe amygdalien

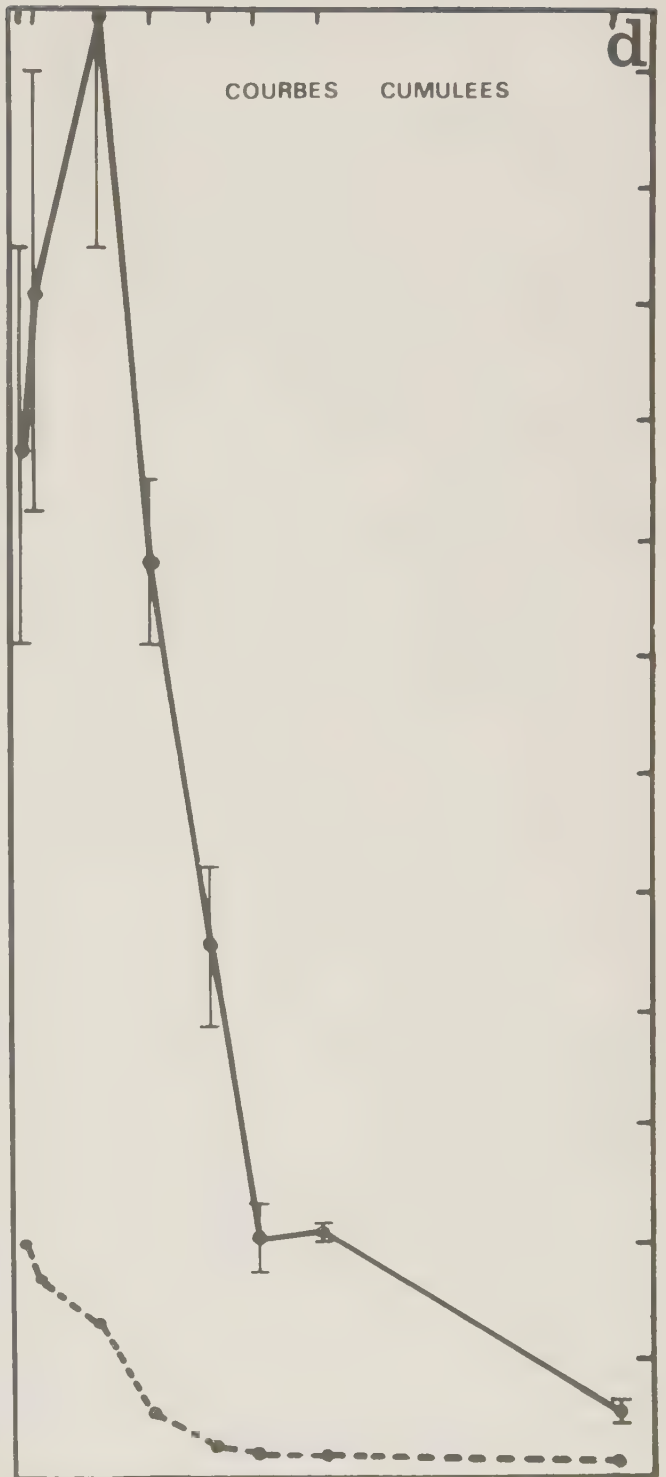
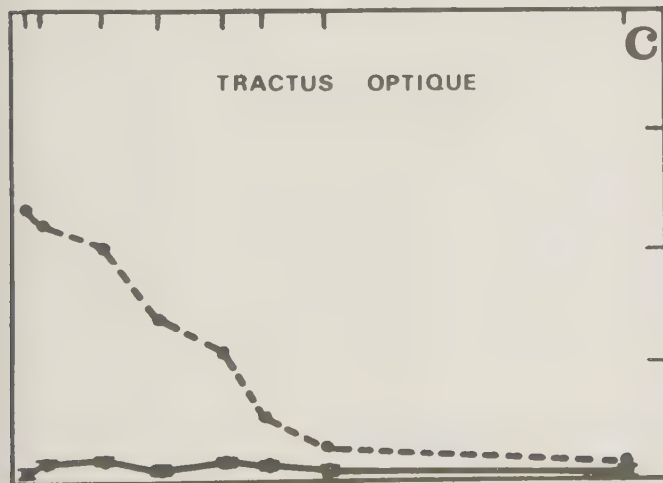
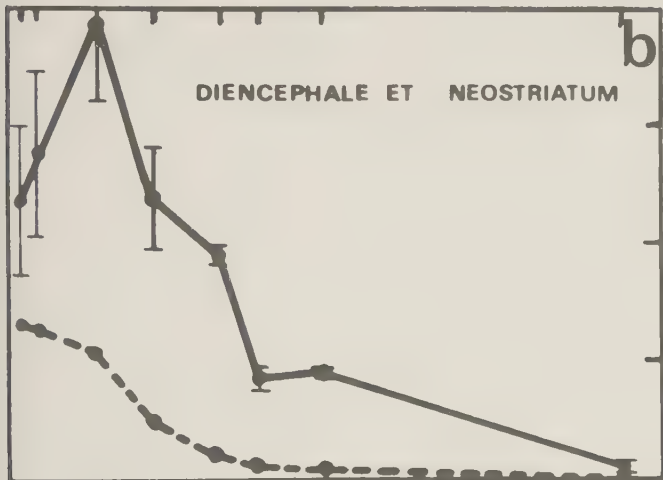
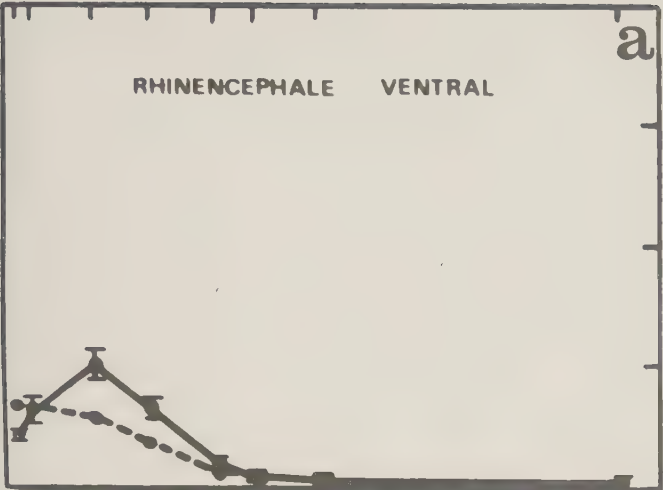
Figure b : Diencéphale et néostriatum

Figure c : Tractus optique

Figure d : Courbes cumulées.

L'erreur standard est également figurée, pour le nombre de cellules marquées, par les traits verticaux.

PLANCHE 18



A - Nombre total et densité des cellules névrogliales mar-
quées en fonction de l'âge

(Tableau n° 4 et interprétation des Pl. 17 et 18, pages 64 et 65).

a) Dans les régions génératives

. Région périventriculaire de la corne antérieure et du corps
du ventricule latéral (Pl. 7 cartouche, Pl. 17, fig. c)

. La courbe du nombre des cellules marquées, abondantes
dans la partie latérale subépendymaire, présente quatre
phases : une phase descendante, de 20 h à 2 jours, une
phase ascendante de 2 à 7 jours, deux phases de décrois-
sance, d'abord rapide, de 7 à 19 jours, puis moins rapi-
de de 19 à 47 jours. La courbe de densité (non représen-
tée sur la fig. 17 c) descend progressivement à partir
du point haut situé à 20 heures. Il est intéressant de
noter les valeurs particulièrement élevées de cette den-
sité par rapport à celles des autres structures (supé-
rieures à 100 fois).

Les régions épendymaire et périventriculaire du troi-
sième ventricule sont très peu ou pas marquées.

b) Dans la substance grise

. Cortex cérébral (Pl. 17, fig. a page 64)

L'évolution s'effectue en trois phases : une phase ascen-
dante avec un pic à 7 jours, puis deux phases de décroissance :
une rapide, de 7 à 19 jours, une lente, de 19 à 47 jours. Une
analyse partielle portant sur les cinq derniers stades montre
une décroissance relativement moins accentuée pour le cortex
dorsal. La courbe de densité présente des caractéristiques iden-
tiques avec des pentes plus faibles.

AGE DE L'ANIMAL	Cortex cérébral	Corps callos	Région sub- épendymaire	Rhinencé- phale dorsal	Rhinencé- phale ventral	Diencephale et néostria- tum	Traetus optique	Valeurs cu- mulées pour n Valeurs moyen- nes pour d
20 h	n 92 ± 18	64 ± 15	193 ± 48	235 ± 59	47 ± 11	240 ± 60	13 ± 4	884 ± 173
	d 24 ± 5	9 ± 20	7500 ± 900	78 ± 16	18 ± 4	32 ± 7	65 ± 15	50 ± 12
2 jours	n 236 ± 53	42 ± 11	150 ± 40	223 ± 56	61 ± 17	285 ± 71	18 ± 5	1015 ± 180
	d 30 ± 7	50 ± 12	5260 ± 600	62 ± 15	18 ± 4	31 ± 7	60 ± 20	40 ± 7
7 jours	n 412 ± 82	71 ± 14	160 ± 40	170 ± 40	102 ± 22	390 ± 80	20 ± 5	1325 ± 210
	d 33 ± 7	55 ± 10	4100 ± 600	31 ± 6	17 ± 4	26 ± 6	50 ± 13	33 ± 6
11 jours	n 231 ± 66	54 ± 10	70 ± 22	108 ± 40	73 ± 14	235 ± 69	14 ± 5	785 ± 82
	d 13 ± 5	31 ± 4	1400 ± 400	16 ± 6	10 ± 3	19 ± 5	35 ± 10	15 ± 5
16 jours	n 101 ± 9	34 ± 4	50 ± 6	37 ± 11	34 ± 5	188 ± 10	15 ± 2	457 ± 69
	d 4 ± 0,4	15 ± 4	1050 ± 150	5 ± 1	4 ± 1	7 ± 0,5	27 ± 5	6,5 ± 1,5
19 jours	n 36 ± 9	23 ± 3,5	30 ± 9	15 ± 1	15 ± 1	84 ± 15	10 ± 1,5	205 ± 31
	d 1,3 ± 0,2	10 ± 1,5	600 ± 80	2,5 ± 0,2	2 ± 0,2	3 ± 0,7	15 ± 2	3 ± 0,6
24 jours	n 29 ± 3	29 ± 1	25 ± 5	22 ± 3	12 ± 1	90 ± 5	5 ± 0,5	212 ± 16
	d 1 ± 0,1	11,5 ± 0,1	520 ± 50	3,5 ± 0,5	2 ± 0,3	3,5 ± 0,2	6,5 ± 0,5	2,9 ± 0,5
47 jours	n 18 ± 4	10 ± 3	9 ± 3	5 ± 1,5	3 ± 1	18 ± 7	2 ± 1	66 ± 12
	d 0,6 ± 0,1	3,5 ± 0,9	180 ± 60	0,4 ± 0,05	0,3 ± 0,04	0,5 ± 0,15	3 ± 1,7	0,7 ± 0,1

Tableau n° 4

n = nombre de cellules gliales marquées

d = densité (nombre de cellules gliales marquées par cm²)

. Diencéphale et néostriatum (Pl. 18, fig. b, page 65)

L'évolution s'effectue en trois phases : une ascendante avec un point haut à 7 jours, suivie de deux phases de décroissance, l'une de 7 à 19 jours, irrégulière et rapide, l'autre, un peu moins rapide, de 19 à 47 jours, avec une remontée de 19 à 24 jours. La courbe de densité montre deux segments, le premier décroissant rapidement de 20 h à 19 jours, le second décroissant lentement de 19 jours à 47 jours, avec un palier de 19 à 24 jours.

. Rhinencéphale ventral et complexe amygdalien (Pl. 18, fig. a)

Trois phases sont à distinguer : une ascendante avec un point haut à 7 jours, puis deux phases de décroissance, une rapide, de 11 à 19 jours, et une lente de 19 à 47 jours. La courbe de densité présente un palier entre 20 h et 7 jours, suivi d'une légère décroissance jusqu'à 19 jours, un nouveau palier de 19 à 24 jours, et enfin une décroissance à peine marquée jusqu'à 47 jours.

. Rhinencéphale dorsal (Pl. 17, fig. d, page 64)

Deux phases se succèdent : une phase de décroissance rapide, de 20 h à 19 jours, suivie d'une phase de décroissance lente, de 19 à 47 jours, avec une remontée initiale entre 19 et 24 jours. La courbe de densité traduit une évolution comparable dans la forme, avec des pentes différentes.

c) Dans la substance blanche

. Corps calleux (Pl. 17, fig. b, page 64)

Quatre phases sont à distinguer : une phase descendante,

de 20 h à 2 jours, une phase ascendante avec un pic à 7 jours, et deux phases de décroissance comparables à celles de la région périventriculaire du ventricule latéral. La courbe de densité traduit des variations analogues, avec des pentes plus fortes.

. Tractus optique (Pl. 18, fig. c, page 65)

Deux phases s'y succèdent, la première avec un point haut à 7 jours et une deuxième remontée de 11 à 16 jours, la seconde décroissant de 24 à 47 jours. La courbe de densité décroît progressivement de 20 h à 24 jours, ensuite plus lentement jusqu'à 47 jours.

La courbe cumulée (Pl. 18, fig. d, page 65), pour le total des cellules, est particulièrement influencée par les structures à fort pourcentage de noyaux marqués, telles le cortex cérébral et le diencéphale. Elle en présente les trois phases caractéristiques, une phase ascendante avec le point haut à 7 jours, suivie de deux phases de décroissance, une rapide de 7 à 19 jours, puis une plus lente jusqu'à 47 jours, avec une légère remontée entre 19 et 24 jours. La courbe des densités moyennes décroît, pour sa part, plus ou moins brutalement jusqu'à 19 jours, puis en pente douce jusqu'à 47 jours, n'atteignant jamais le point abscisse zéro.

B - Nombre moyen de grains par cellule

La moyenne des grains par cellule varie peu, entre 18 et 24, et de façon apparemment non régulière.

2/ Discussion

Les résultats exposés prêtent à quatre ordres de considération.

A - Prolifération cellulaire dans les régions génératives

Les valeurs trouvées dans la totalité de l'hémisphère cérébral permettent de dégager deux notions essentielles, qui découlent l'une de l'autre : l'intense activité des multiplications cellulaires dans la région périventriculaire de la corne antérieure et du corps du ventricule latéral, d'une part, et la persistance du renouvellement des populations névrogliques à l'âge adulte, d'autre part.

a) Activité de la région périventriculaire du ventricule latéral (Pl. 19, fig. A)

Cette région périventriculaire est formée d'une couche de cellules épendymaires tapissant la cavité du ventricule latéral et en contiguïté avec des cellules subépendymaires (ou subventriculaires) disposées sur deux rangées (Pl. 7, cartouche, page 37). C'est surtout la partie latéro-dorsale de la zone subépendymaire, située en bordure du corps calleux et du noyau caudé, qui prolifère activement à partir de la deuxième semaine de gestation (Berry et al., 1964 ; Sidman et al., 1959 ; Angevine, 1970 ; Smart, 1972). Après avoir donné naissance successivement aux cellules matricielles et aux neuroblastes, elle engendre les glioblastes (Fujita et Fujita, 1963 ; Fujita, 1966). C'est ainsi que chez le Rat, les cellules matricielles, ventriculaires, sont produites à 10 jours et demi, les macroneurones à 11 jours, tandis que les premières cellules gliales apparaissent vers le 14^e jour (cf. Altman et Ditter, 1962 ; Bisconte, 1973).

La courbe de densité névroglie, particulièrement significative, décroît progressivement à partir du point le plus haut en valeur absolue, situé à 20 heures après la naissance, et caractérisé par une densité au cm^2 de 7500 cellules marquées. Ces observations concordent avec celles de Smart (1961), Altmann (1966), Shimada (1966), Lewis (1968), Haas et al. (1970) enregistrées dans les périodes périnatale et adulte ; elles ont été confirmées depuis par Privat et Leblond (1972) chez le Rat, Demêmes et Marty (1971) chez le Chat, Mepisaschvili (1971), Blakemore et Jolly (1972) chez le Chien, parmi d'autres.

b) Persistance du renouvellement des populations névrogliques

L'activité de la zone subépendymaire du ventricule latéral, exprimée de façon systématique par le nombre et la densité des cellules marquées, diminue avec l'âge, mais ne cesse pas (Pl. 19, fig. A, page 72) ; elle reste encore relativement élevée à 47 jours, assurant ainsi la persistance des populations névrogliques (Bryans, 1959 ; Hopewell, 1971). Ce dernier observe chez le Rat des valeurs similaires. Comparant les courbes d'évolution du poids du corps et de l'activité mitotique de la plaque subépendymaire en fonction de l'âge, il constate que cette activité diminue, indépendamment d'ailleurs du sexe de l'animal, jusqu'à 8 mois. La décroissance en fonction de l'âge traduit la diminution de l'indice de prolifération caractéristique de la zone subépendymaire, dont la surface augmente faiblement. Quels que soient le niveau d'activité et la finalité adoptée -renouvellement lent selon Hain et al. (1960), Dalton et al. (1968) ou croissance continue-, l'activité proliférative de la zone subépendymaire persiste même à l'état adulte.

Les nouvelles cellules fabriquées, qualifiées par Paterson et al. (1972 et 1973) de cellules subépendymaires libres, alimentent certaines struc-

PLANCHE 19

Radio-autographies réalisées au niveau du prosencéphale (thymidine ^3H - 2 μCi par gramme).

Figure A : Région périventriculaire de la corne antérieure du ventricule latéral.

âge : 20 h ; émulsion G5 Ilford ; grossissement x 125

Figure B : Cortex cérébral

âge 20 h ; émulsion K2 Ilford ; grossissement x 2800

Figure C : Rhinencéphale dorsal

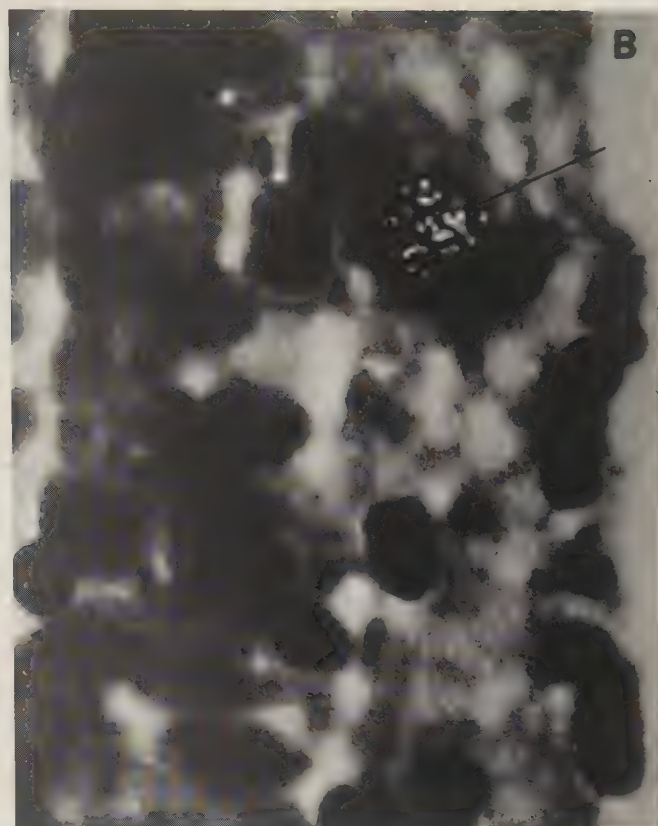
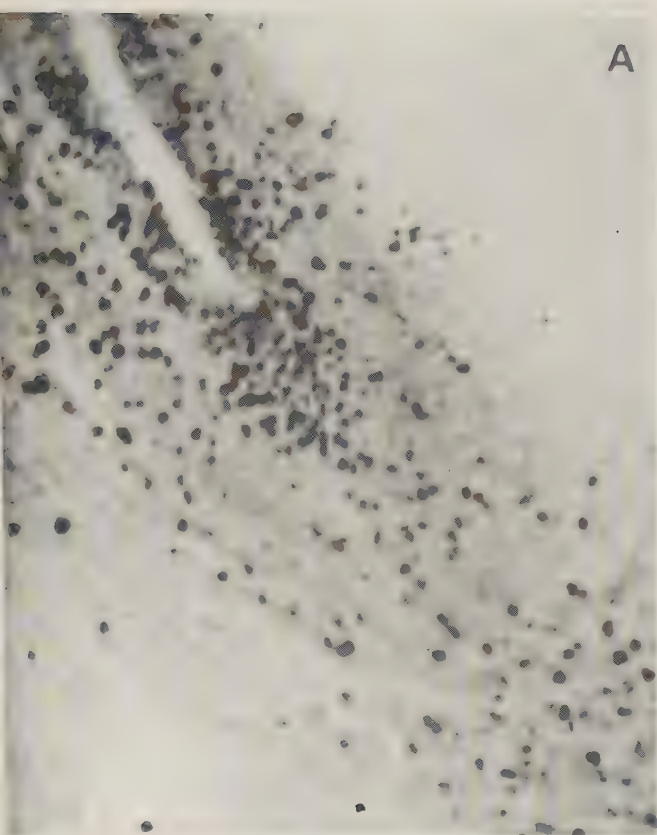
âge : 24 jours ; émulsion K2 ; grossissement x 2150

Figure D : Corps calleux

âge : 2 jours ; émulsion K2 ; grossissement x 3750

Les grains d'argent sont indiqués par les flèches.

PLANCHE 19



tures voisines comme le corps calleux.

Ce fait mis en évidence par radio-autographie, a déjà été souligné par Altman et Das (1965 a et b, 1966 et 1967) puis Altman (1966), enfin Altman et al. (1968) qui insistent sur l'extrême radiosensibilité des cellules migratrices. Les cellules subépendymaires se différencieraient ultérieurement en oligodendrocytes, astrocytes et microglie éventuellement, selon un schéma déterminé (Noetzel et Rox, 1964 ; Wechsler et Meller, 1967 ; Vaughn, 1969 ; Paterson et al., 1973). Elles correspondraient alors aux spongioblastes de Jones (1932), Sauer (1935), Kershman (1938) ou aux glioblastes de Fujita et Fujita (1964) et Fujita (1965 a et b). De ces considérations sur la destinée et le rôle des cellules subépendymaires, découle logiquement la question de l'origine des cellules névrogliques. Excepté la réserve émise pour la microglie, il semblerait que la cellule subépendymaire soit la cellule souche commune, de nature ectodermique. Cette hypothèse, suggérée par certains auteurs dont Lewis (1968) et Privat (1970), rallie nos suffrages sans qu'une preuve formelle et directe soit apportée à l'appui de notre conviction.

B - Prolifération cellulaire dans la substance grise (cortex cérébral, diencephale et néostriatum, rhinencéphales ventral et dorsal (Pl. 19, fig. B et C, page 72)

Les courbes du cortex cérébral, du diencephale et du rhinencéphale ventral présentent des formes analogues, caractérisées par une phase ascendante et un pic à 7 jours, suivis de deux phases de décroissance, d'abord rapide de 7 à 19 jours, puis lente de 19 à 47 jours ; cette dernière phase peut présenter une légère remontée entre 19 et 24 jours. Les graphiques permettent de noter l'importance en valeur absolue du cortex cérébral et du

diencéphale, à 7 jours notamment, mais également à 11 et 16 jours. La courbe cumulée, particulièrement influencée par ces deux structures à fort pourcentage de noyaux marqués, illustre parfaitement leur analogie. Les courbes de densité du cortex cérébral, du diencéphale et du rhinencéphale ventral présentent des maximums qui sont relativement les plus bas (33, 32 et 18 cellules marquées par cm^2 respectivement) ; les courbes du cortex cérébral et du diencéphale diffèrent entre elles à 7 jours ; l'augmentation de surface, contemporaine de la forte poussée gliale à ce stade, est plus importante dans le diencéphale. L'analyse de variance de la densité des cellules gliales marquées indique une évolution comparable dans ces deux structures. Pour ce qui est du rapport nombre de cellules névrogliques/ nombre de neurones, il est égal à 1/2 dans la couche VI du cortex (Mori, 1972), mais ce coefficient dépend étroitement, selon Brizzee et al. (1963 et 1968), de la maturation du cerveau et du cortex cérébral en particulier.

Le rhinencéphale dorsal (Pl. 19, fig. C, page 72) mérite une place à part. En effet, outre la forme particulière de la courbe d'évolution du nombre de cellules marquées, l'analyse de variance de la densité y montre deux composantes ; entre 20 h et 7 jours, l'analyse statistique révèle des analogies évolutives entre le rhinencéphale dorsal et la substance blanche, tandis qu'entre 7 et 47 jours l'évolution du rhinencéphale dorsal rappelle celle de la substance grise. Ce caractère mixte du rhinencéphale dorsal peut s'expliquer par une analogie de structure.

C - Prolifération cellulaire dans la substance blanche (corps calleux et tractus optique, Pl. 19, fig. D, page 72).

Les courbes concernant le corps calleux et le tractus optique montrent deux phases ascendantes et un point haut à 7 jours pour le nombre de cellu-

les marquées. Les courbes de densité, excepté deux légères remontées pour le corps calleux à 7 et 24 jours, décroissent plus ou moins rapidement. L'analyse de la variance appliquée au corps calleux et au tractus optique exprime également des analogies évolutives. L'indice de prolifération y atteint des valeurs supérieures aux précédentes, soit environ 60 cellules par cm^2 . Ces résultats, du fait même de la technique utilisée qui permet de marquer efficacement presque toutes les cellules en voie de division (Pl 19, fig. D, page 72) indiquent incontestablement une décroissance de la prolifération cellulaire en fonction du temps. Cette observation corrobore les conclusions de Sakla (1965) chez le Souris, confirmées par Gilmore en 1971 chez le Rat. En effet ces auteurs, analysant l'activité mitotique et proliférative des cellules névrogliques dans la moelle épinière, constatent que cette activité diminue avec l'âge, sans être totalement stoppée comme le suggérait Allen en 1912. Gilmore présente d'ailleurs, après marquage à la thymidine tritiée, des courbes d'évolution du nombre des cellules névrogliques en fonction de l'âge (12 heures à 30 jours) similaires aux nôtres. En revanche pour Ling et Leblond (1973), l'activité proliférative dans le corps calleux, non seulement persiste mais augmente avec l'âge, indication qui modifie les résultats de la publication antérieure de Dalton, Hommes et Leblond (1968). Les objections soulevées par Ling et Leblond au sujet d'un comportement prolifératif différent suivant les structures étudiées et l'utilisation de la paraffine comme milieu d'inclusion ne paraissent pas suffisantes pour justifier leur position. En ce qui concerne le corps calleux, l'existence du pic à 7 jours, qui correspond à une remontée de l'indice de prolifération -remontée contemporaine de celle caractérisant la région subépendymaire-, est en relation vraisemblable avec la myélinisation et la constitution des gaines périfasciculaires, comme nous le

verrons plus loin. Le déclin de l'indice de prolifération cellulaire peut dépendre d'un ou plusieurs facteurs éventuellement associés, en particulier l'arrêt de la myélinisation et, peut être, la disparition d'une partie de la population névroglique ("dégliose"), qui sera commentée plus en détail dans le prochain chapitre. Les informations obtenues par des méthodes histologiques classiques dans d'autres espèces, comme le Chat, plaident d'ailleurs dans le même sens, qu'il s'agisse du corps calleux (Fleischhauer et Hillebrand, 1966 ; Hillebrand, 1966 ; Fleischhauer, 1967 et 1968) ou du tractus optique (Chevreau et Marty, 1961).

Tout au long de la discussion de la prolifération cellulaire, l'expression "cellules névrogliques" a été la plupart du temps volontairement employée sans précisions complémentaires concernant le stade évolutif (blastés, formes de transition) et la nature des éléments gliaux (oligodendrocytes, astrocytes, microglie), ainsi que les modalités des processus de division (mitotique, amitotique), afin de ne pas trop augmenter la complexité des problèmes posés. De surcroît, l'éventualité de migrations neuroniques tardives évoquées par Mitra (1955), Altman et Das (1965, 1966), et Hicks et D'Amato (1968) ne saurait pas être totalement écartée. Dans ce contexte cependant, une certaine réserve semble se faire jour à propos de la nature exacte des éléments blastiques émis dans la période postnatale.

D - Nombre moyen de grains par cellule

Le nombre moyen de grains par cellule varie peu d'un stade à l'autre. Les valeurs extrêmes trouvées (18 et 24) ne permettent pas, à elles seules, de tirer des conclusions nettes sur la durée de la phase de synthèse des cellules névrogliques en fonction de l'âge de l'animal.

IV - Migrations névrogliales

Comparativement aux phénomènes de prolifération, les processus de migration ont été moins étudiés (cf. liste des articles cités sous la rubrique radio-autographie, chapitre "Résultats et Discussion", paragraphe II, page 48). La mise en oeuvre d'une méthodologie particulière, basée sur des délais de survie échelonnés entre 2 et 17 jours, après injection unique de thymidine tritiée à des âges déterminés -2 jours et demi et 6 jours postnataux- rend possible la quantification de ces processus contemporains, puis consécutifs à la prolifération névrogliale. Dans le cadre d'une analyse de ce genre et compte tenu des nombreuses difficultés techniques rencontrées, il n'est pas nécessaire d'étendre les investigations à tout un système, sauf s'il s'agit d'une étude comparative. Un modèle suffit donc. Les particularités actuellement reconnues au développement et à la myélinisation des voies optiques primaires (Marty, 1962) nous ont incité à localiser nos recherches sur leur portion rétrochiasmatique, encore peu étudiée : le tractus optique, dont l'une des caractéristiques principales -l'absence de neurones- a déjà été soulignée (Fulcrand et Marty, 1971) (Pl. 20, page 78).

1/ Résultats

La quantification a porté successivement sur les paramètres suivants, en fonction du délai de survie : densité de l'ensemble des cellules névrogliales (nombre des cellules par $3600 \mu\text{m}^2$ de structure), évaluation qui élimine l'influence de la densité axonique ; densité des cellules névrogliales marquées ; pourcentage des cellules marquées par rapport à la population névrogliale totale (index de marquage : Asbury, 1967) et nombre de

PLANCHE 20

Reconstruction par photomontage du tractus optique

En bas et à gauche : coupe antérieure au niveau chiasmatique
En haut et à droite : coupe postérieure.

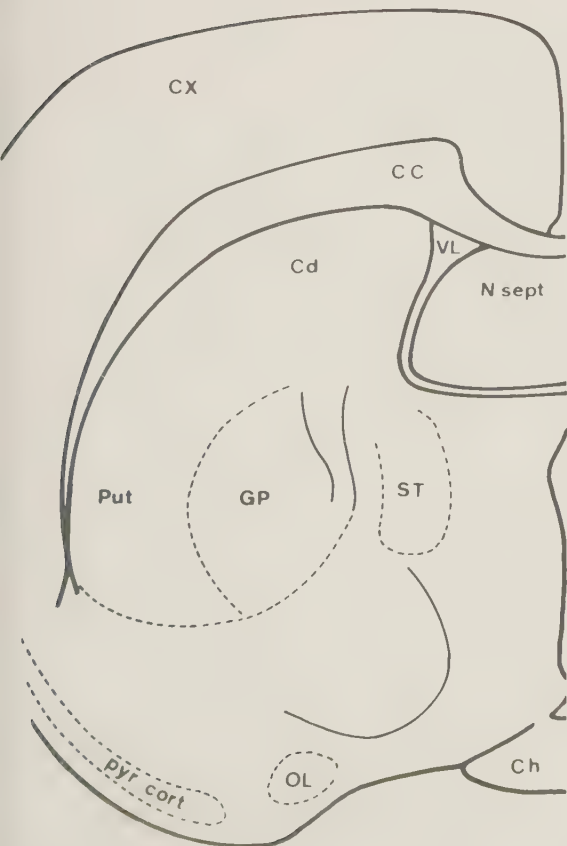
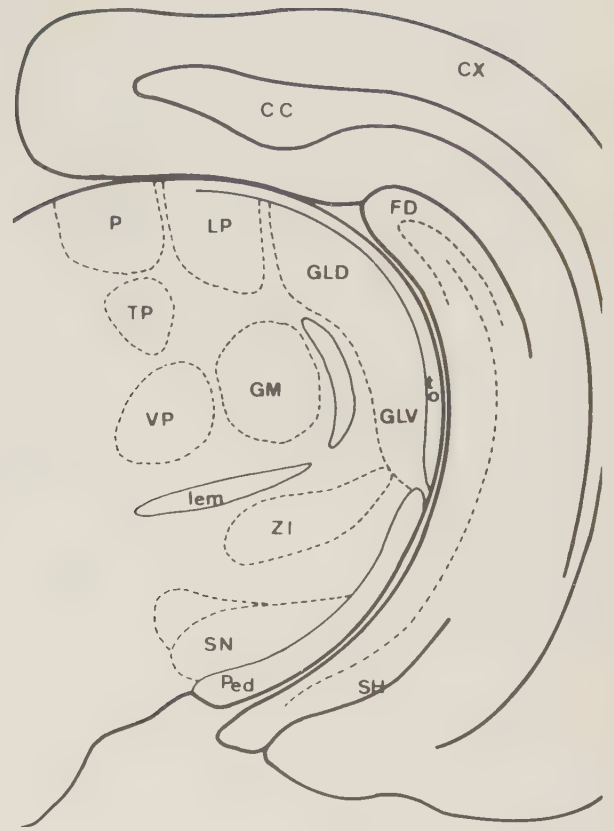
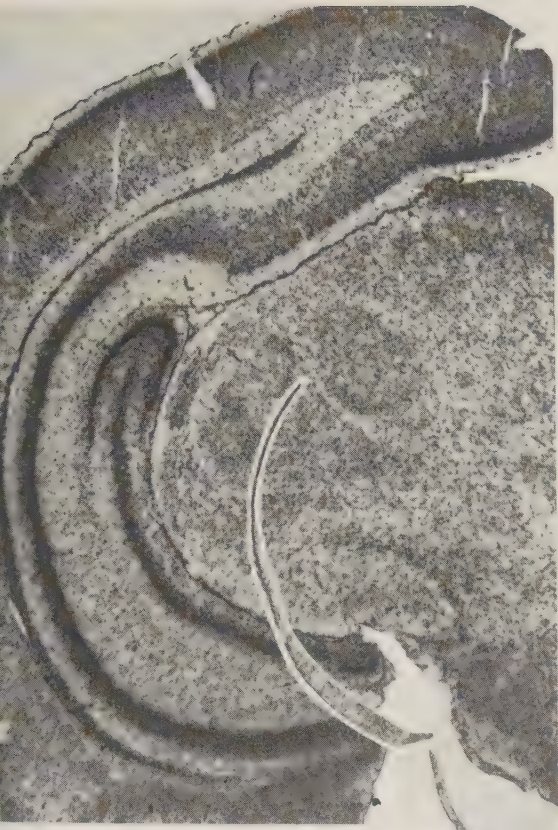
Nomenclature utilisée :

CX	cortex cérébral
CC	corps calleux
VL	ventricule latéral
N.sept	noyaux septaux
ch	chiasma optique
OL	noyau du tractus olfactif
pyr.cort.	cortex piriforme
Put	putamen
GP	pallidum
ST	strie terminale
Cd	noyau caudé
FD	fimbria
SH	sillon hippocampique
Ped	pédoncule cérébral
SN	substance noire
ZI	zona incerta
lem	lemniscus median
to	tractus optique

noyaux thalamiques :

GLV	noyau géniculé latéral ventral
GDL	noyau géniculé latéral dorsal
GM	noyau géniculé médian
VP	noyau ventral postérieur
TP	noyau postérieur du thalamus
P	aire prétectale
LP	noyau latéral postérieur

PLANCHE 20



grains par noyau dans les trois segments successifs ; pourcentage respectif des cellules marquées dans les trois régions contiguës.

A - Date de l'injection : 2 jours et demi (Pl. 21, fig. A-D, p.80)

a) Densité de l'ensemble des cellules névrogliques ; densité et pourcentage des cellules névrogliques marquées

Segment antérieur du tractus optique

La courbe de densité de l'ensemble des cellules névrogliques présente un pic à 7 jours après l'injection, suivi d'une phase de décroissance jusqu'à 17 jours. La densité des cellules névrogliques marquées montre un point haut 5 jours après l'injection, puis deux phases de décroissance : une rapide, de 5 à 11 jours, l'autre plus lente, de 11 à 17 jours. L'évolution du pourcentage des cellules névrogliques marquées traduit des variations analogues.

Segments moyen et postérieur du tractus optique

La comparaison des moyennes fait apparaître, pour ces deux segments du tractus optique, des résultats statistiquement comparables. Pour les courbes de densité de l'ensemble des cellules névrogliques, l'évolution s'effectue en trois phases : une phase ascendante de 2 à 7 jours après l'injection, avec un point de départ situé à un niveau inférieur à celui correspondant au segment antérieur, un palier de 7 à 11 jours (segment moyen) ou de 7 à 9 jours (segment postérieur), auquel succède une phase de décroissance. Deux étapes sont à distinguer pour la densité des cellules névrogliques marquées : la première, légèrement ascendante, avec un point haut à 5 jours, la seconde décroissante jusqu'à 17 jours. Le pourcentage des cellules névrogliques marquées indique un maximum à 5 jours pour le segment moyen et à 3 jours pour

PLANCHE 21

Représentations graphiques des multiplications névrogliales dans le tractus optique, en fonction de l'âge de l'animal : date de l'injection 2 jours et demi.

Figure A : Densité de l'ensemble des cellules névrogliales

Figure B : Densité des cellules névrogliales marquées

Figure C : Pourcentage des cellules névrogliales marquées par rapport à la population névrogliale totale

Figure D : Nombre de grains par noyau

- 1 Segment antérieur, trait épais
- 2 Segment moyen, trait moins épais
- 3 Segment postérieur, trait fin

Chaque point représente un nombre moyen de cellules névrogliales ou de grains (ordonnée) en fonction du délai de survie (abscisse).

PLANCHE 21

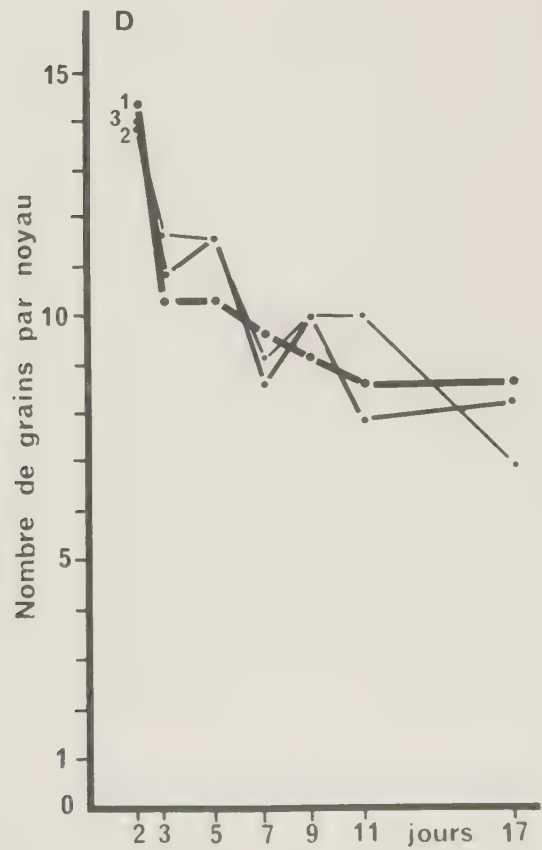
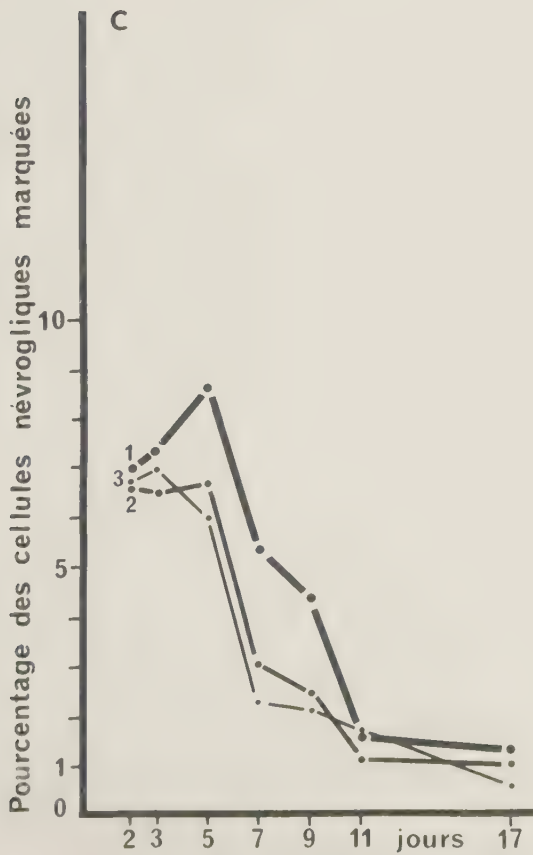
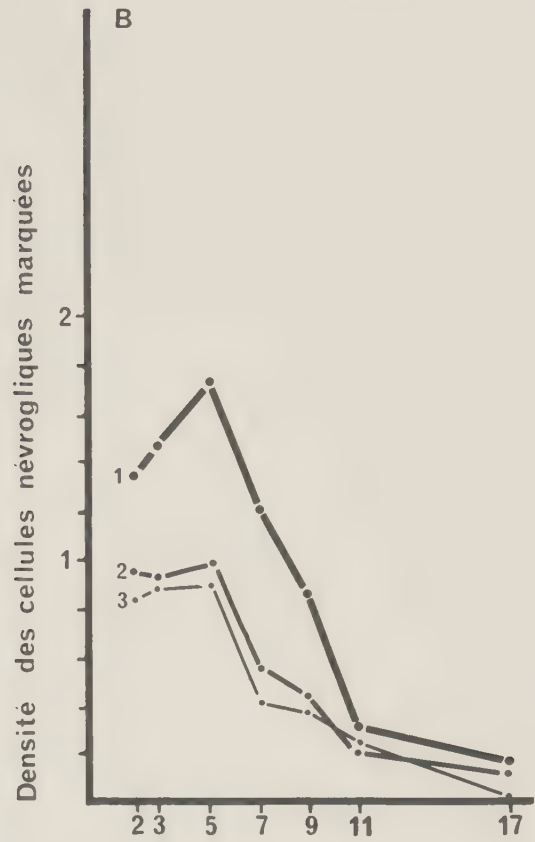
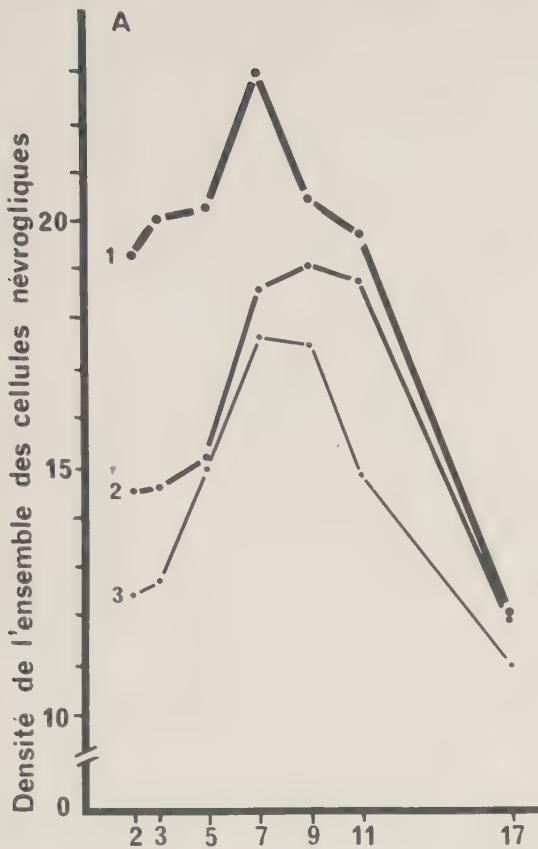


PLANCHE 22

Représentations graphiques des multiplications névrogliales dans le tractus optique, en fonction de l'âge de l'animal : date de l'injection : 6 jours.

Figure A : Densité de l'ensemble des cellules névrogliales

Figure B : Densité des cellules névrogliales marquées

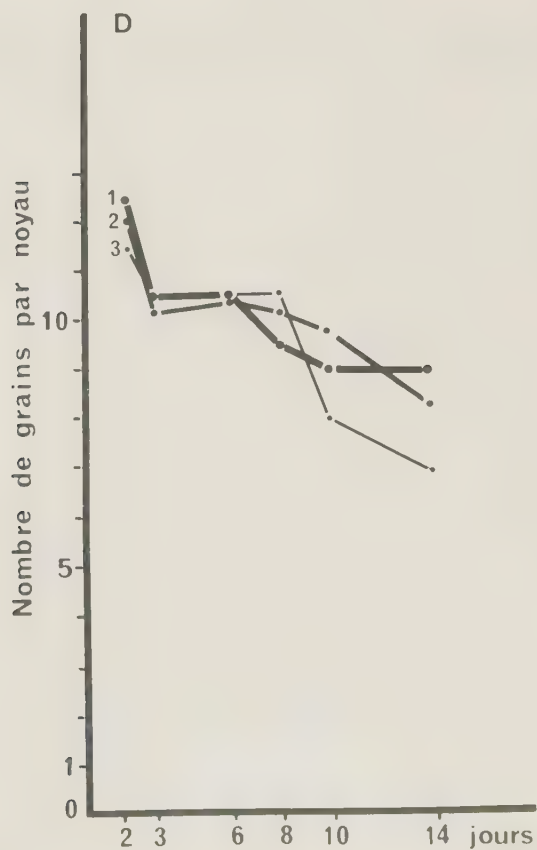
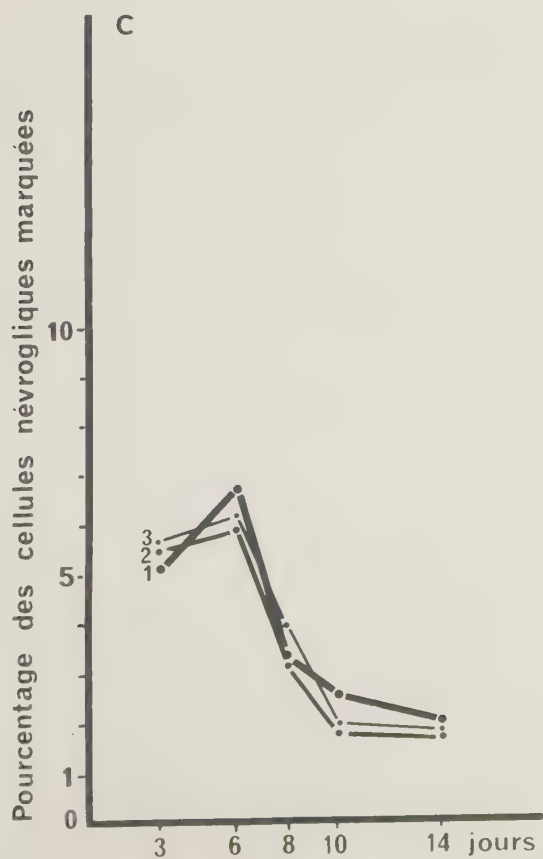
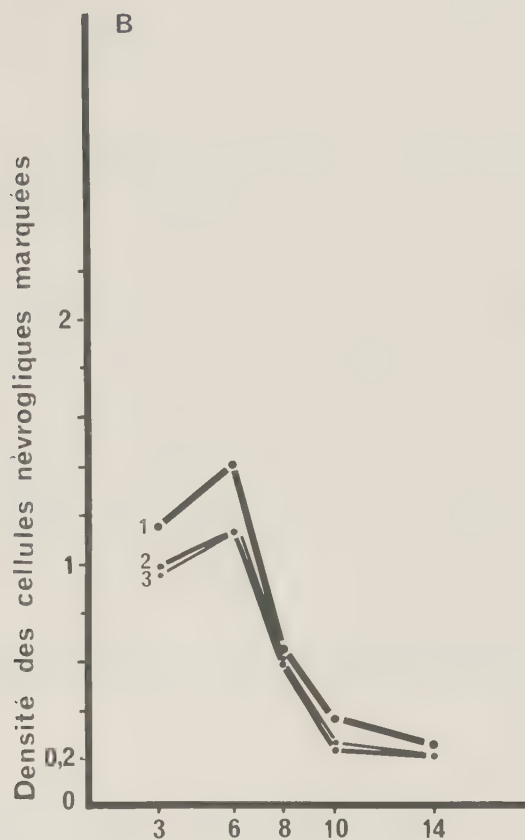
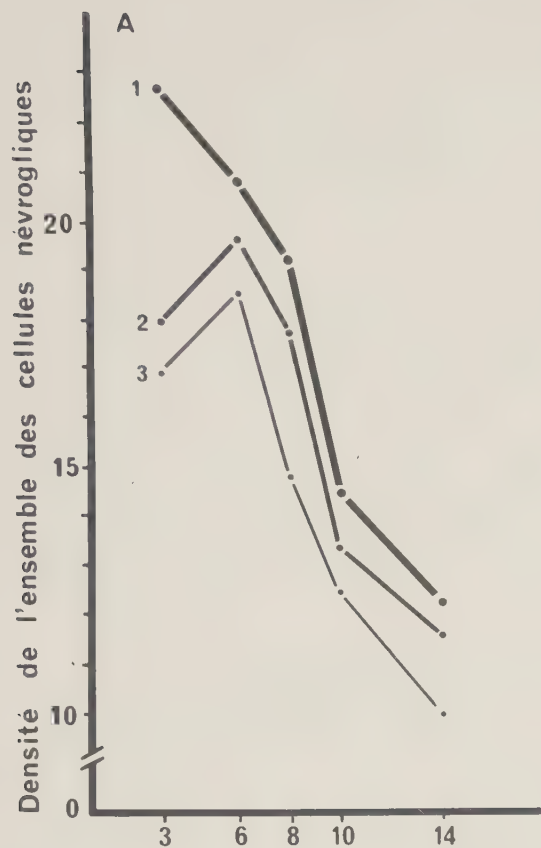
Figure C : Pourcentage des cellules névrogliales marquées

Figure D : Nombre de grains par noyau

- 1 Segment antérieur, trait épais
- 2 Segment moyen, trait moins épais
- 3 Segment postérieur, trait fin

Chaque point correspond à un nombre moyen de cellules névrogliales ou de grains (ordonnée) en fonction du délai de survie (abscisse).

PLANCHE 22



le segment postérieur.

b) Nombre de grains par noyau de cellule névroglie marquée
(Pl. 21, fig. D)

La courbe représentative du nombre de grains par noyau névroglie marquée dans les trois segments du tractus optique indique une décroissance rapide de 2 à 3 jours après l'injection, où la moyenne de grains passe de 14 à 11 jours environ, suivie d'une décroissance lente, plus ou moins régulière suivant les segments envisagés, jusqu'à 17 jours.

c) Pourcentage respectif des cellules névrogliques marquées dans les 3 régions contiguës

Les valeurs trouvées sont les suivantes : région médiane 20 %, région moyenne 38 %, région latérale 42 %.

B - Date de l'injection : 6 jours (Pl. 22, fig. A-D, page 81)

a) Densité de l'ensemble des cellules névrogliques, densité et pourcentage des cellules névrogliques marquées

La courbe de densité de l'ensemble des cellules névrogliques est analogue, d'un point de vue graphique, aux parties correspondantes de la courbe obtenue précédemment, à partir de 9 jours après la naissance.

. Segment antérieur

Deux phases sont à distinguer pour la courbe de densité des cellules névrogliques marquées : une phase ascendante avec un maximum 6 jours après l'injection, l'autre descendante jusqu'à 14 jours. Deux étapes caractérisent également l'évolution du pourcentage des cellules marquées : la première ascendante avec un pic à 6 jours, la seconde, décroissant plus ou moins

rapidement jusqu'à 14 jours.

. Segments moyen et postérieur

L'évolution des courbes de densité des cellules névrogliales marquées est comparable à celle du segment antérieur, bien que située à un niveau légèrement plus bas. Les courbes du pourcentage des cellules névrogliales marquées expriment également une analogie évolutive avec celle du segment antérieur (point haut à 6 jours), malgré quelques différences locales.

b) Nombre de grains par noyau de cellule névrogliale marqué
(Pl. 22, fig. D)

Les trois courbes montrent une décroissance de 2 à 3 jours après l'injection -où la moyenne des grains passe de 12 à 10,5 environ-, à laquelle succède une phase descendante plus ou moins rapide, avec un palier initial de 3 à 6 ou 8 jours, suivant les segments:

c) Pourcentage respectif des cellules marquées dans les trois régions contiguës

Les valeurs obtenues se répartissent comme suit : région médiane 27 %, région moyenne 43 %, région latérale 30 %.

2/ Discussion

Plusieurs conclusions se dégagent des résultats ci-dessus.

A - Multiplications cellulaires dans le tractus optique

Dans le tractus optique, la densité cellulaire névrogliale devient importante dès la fin de la première semaine de la vie postnatale et reste telle jusqu'au treizième jour (Pl. 21, fig. A, page 80). Elle présente un

pic à 9 jours et demi, pic similaire à ceux observés dans le tractus pyramidal de l'Homme (Friede, 1961 ; Heider, 1967), du Chat (Fleischhauer et Hillebrand, 1966) et du Rat (Schonbach et al., 1968). La densité cellulaire décroît fortement vers la fin de la deuxième semaine postnatale. La comparaison des courbes de densité de l'ensemble des cellules névrogliques et des cellules névrogliques marquées, dans le premier cas surtout (Pl. 21, fig. A et B, page 80), indique une décroissance plus précoce de la courbe de densité des cellules névrogliques marquées (5 jours après l'injection au lieu de 7). Le taux des multiplications cellulaires, exprimé par le pourcentage des cellules névrogliques marquées, est maximal à la fin de la première semaine de la vie postnatale (Pl. 21, fig. C, page 80). Les multiplications cellulaires sont plus nombreuses dans les régions moyenne et latérale que dans la région médiane du tractus. L'intensité de l'activité cellulaire, qui présente un pic au 7^e jour qui suit l'injection est, selon toute vraisemblance, l'expression du processus connu sous le nom de gliose de myélinisation depuis sa mise en évidence par Roback et Scherer en 1935. Cette gliose, explicitée par des critères essentiellement histologiques, avait déjà été décrite au niveau du tractus optique, mais de façon globale, par Chevreau et Marty en 1961 ; elle a été démontrée également au niveau d'autres faisceaux, parmi lesquels les cordons médullaires (Bensted et al., 1957), le corps calleux (Fleischhauer, 1968 a et b ; Schmidt, 1969 ; Lucas, 1972) et le faisceau pyramidal (Samorajski et Friede, 1968). Ces constatations histologiques ont été confirmées sur le plan radio-autographique (Friede et Samorajski, 1968 ; Friede, 1970 ; Fulcrand et Marty, 1970, par exemple). La participation des différentes catégories névrogliques dans la gliose de myélinisation sera examinée en détail dans le prochain chapitre. La comparaison des courbes évolutives de la densité névroglique, appréciée du double

point de vue histologique et radio-autographique, montre cependant une discordance chronologique, les maximums étant décalés de deux jours. En fait, ce décalage est dû à la dilution progressive du marqueur, les cellules qui portent moins de 5 grains n'étant pas dénombrées. La diminution ultérieure de cette activité que nous avons qualifiée de "dégliose" ressortit probablement à deux causes, la croissance des fibres nerveuses, d'une part, et la disparition d'une partie de la population névroglique, d'autre part. La croissance des fibres nerveuses se traduit non seulement par l'allongement de leurs espaces internodaux, mais également par l'augmentation de leur diamètre et de l'épaisseur de leur gaine de myéline. Pour un nombre de cellules se stabilisant à un moment donné, il en résulte nécessairement un espacement cellulaire (Hillebrand, 1966). La part qui revient à la disparition cellulaire et ses modalités dans cette "dégliose" nous est pour le moment inconnue, bien que certains auteurs aient décrit une de ses particularités, la pycnose (Pannese, 1958 ; Pannese et Ferannini, 1967). De façon globale, la perte cellulaire dépend également de facteurs externes, telle la sous-nutrition (Patel et al., 1973). La constitution des gaines périfasciculaires représente un phénomène distinct du précédent, en contribuant à la structuration définitive du tractus. Il n'est pas inutile de rappeler à ce propos que la fasciculisation de celui-ci est de type cordonal, alors que la septalisation du nerf optique présente de grandes analogies avec celle des nerfs périphériques. Le nombre des cellules névrogliques peut varier en fonction de la portion de fibre considérée (Peters, 1964 ; Forrester et Peters, 1967 ; Bunge, 1968). Peters et Proskauer (1969) indiquent pour leur part que, dans le nerf optique du Rat, le rapport oligodendrocytes/segments de myéline oscille entre 30 et 50. Cette observation pourrait peut-être expliquer, en partie, les valeurs relativement plus élevées de la densité

dans le segment antérieur du tractus optique.

B- Origine et migration des nouvelles cellules névrogliques

Les courbes de densité des cellules névrogliques marquées en fonction du temps de survie (Pl. 21, fig. B ; Pl. 22, fig. B, pages 80,81) suggèrent que les nouvelles cellules marquées par les molécules de thymidine tritiée n'émigrent pas d'un segment du tractus optique à l'autre. Les multiplications cellulaires s'effectueraient donc, selon toute vraisemblance, *in situ* à partir de la population névroglique existante (Pl. 23, fig. a-d, page 87). Le nombre de cellules névrogliques filles marquées, groupées par 2, étaye cette hypothèse, bien qu'il soit difficile, dans nos conditions d'expérience, d'exclure la persistance d'un apport exogène de cellules névrogliques, émanant de la couche subépendymaire par exemple (cf. paragraphe III 2 A, page 70 , des "Résultats et Discussion"). Dans cette hypothèse, le tractus optique dans son ensemble ne pourrait alors être considéré comme un système clos.

C - Evolution du nombre de grains par noyau

La comparaison des moyennes du nombre de grains par noyau montre un point de départ moins haut pour les animaux injectés à 6 jours. L'évolution des courbes est ensuite comparable dans les deux séries, qui se terminent approximativement au même niveau (8 grains en moyenne, Pl. 21 et 22, fig. D, pages 80,81). Kraus-Ruppert et al. (1973), étudiant dans des cerveaux antérieurs de souris âgées de 4 semaines la prolifération et le renouvellement des cellules névrogliques, après des injections intrapéritonéales répétées de thymidine tritiée (une injection toutes les 8 heures pendant 30 jours), trouvent des moyennes de grains identiques aux nôtres (entre 9 et 11,5). Ces résultats confirment, s'il en était besoin, la validité de la technique em-

PLANCHE 23

*Images radio-autographiques dans le tractus optique (thymidine tritiée ;
émulsion K2 Ilford)*

Figure a : Cellules névrogliques marquées dans la région latérale du segment moyen.

âge de l'injection : 2 jours et demi ; délai de survie : 9 jours ; grossissement x 1900

Figure b : Deux cellules marquées accolées, dans la région médiane du segment antérieur.

âge de l'injection : 2 jours et demi ; délai de survie : 9 jours ; grossissement x 1450

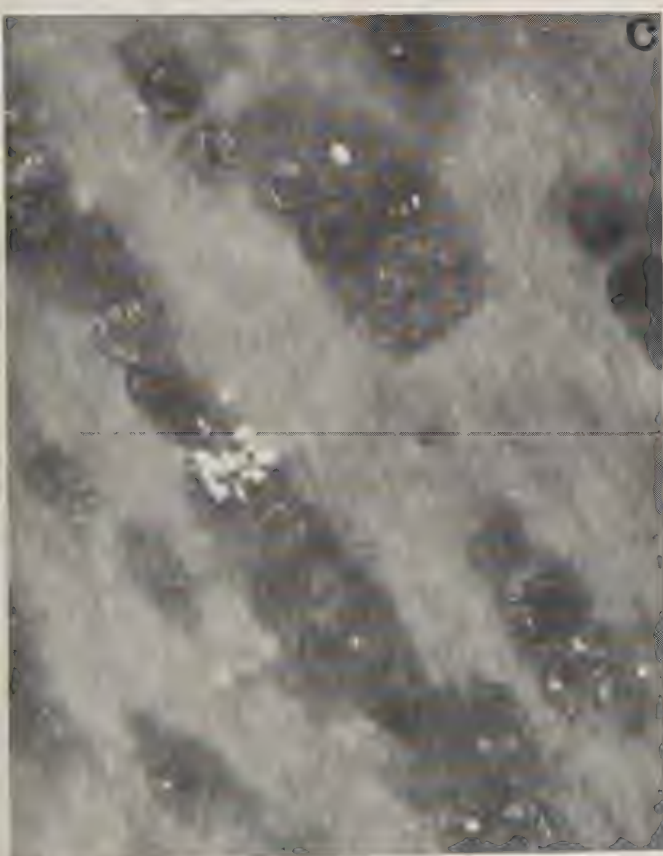
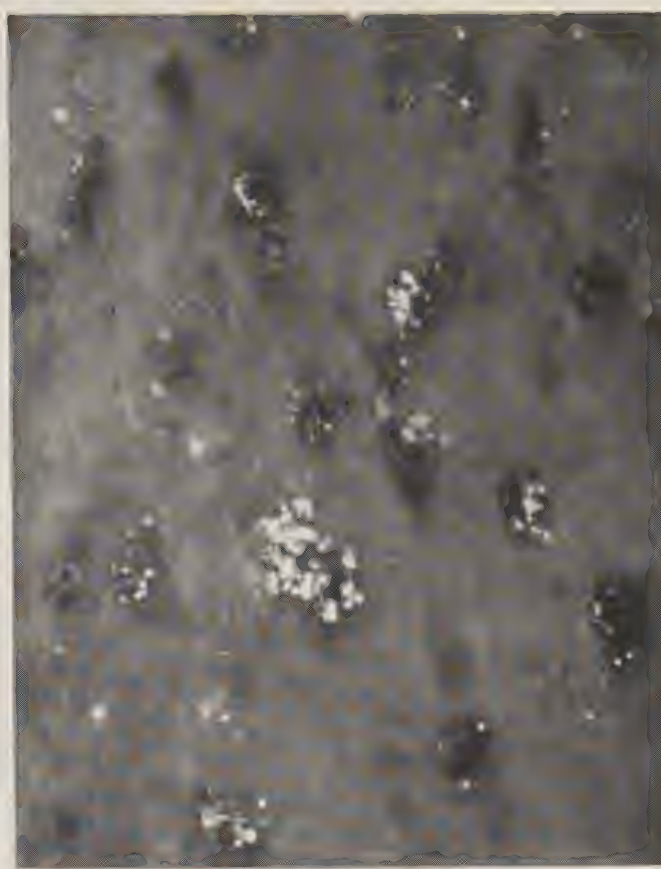
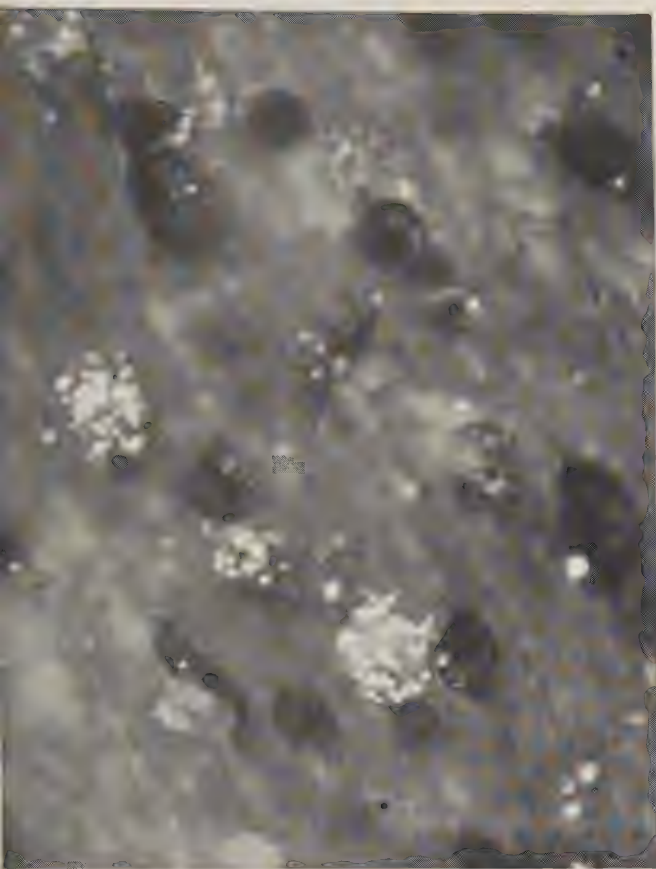
Figure c : Cellule marquée sur un alignement d'éléments névrogliques dans la région moyenne du segment moyen.

âge de l'injection : 6 jours ; délai de survie : 6 jours ; grossissement x 1900

Figure d : Deux cellules névrogliques marquées dans la région latérale du segment moyen.

âge de l'injection : 2 jours et demi ; délai de survie : 9 jours ; grossissement x 1900

PLANCHE 23



ployée. Le déclin initial est probablement dû, en partie, à l'allongement du cycle génératif des cellules névrogliques en fonction de l'âge de l'animal. Cet accroissement du cycle génératif serait un signe de maturation neuromorphologique selon Noetzel et Siepmann (1965). Les paliers et les portions ascendantes des diverses courbes s'expliquent partiellement par le fait que quelques cellules portent un nombre de grains relativement grand. L'arrêt, temporaire ou définitif, des divisions dans un certain nombre de cellules quiescentes au niveau des trois segments du tractus optique pourrait rendre compte de cette particularité. Les arguments avancés pour l'interprétation des courbes, en particulier ceux qui ont trait au cycle génératif, ne sont pas totalement irréfutables en raison de la modalité d'injection unique du précurseur. En effet, les fluctuations de la durée des phases du cycle d'une cellule névroglique à l'autre, et notamment du temps de synthèse qui conditionne l'incorporation de la molécule marquée (cf. chapitre "Résultats et Discussion", paragraphe I, page 39), introduisent des sources d'imprécisions dans l'analyse graphique. Par opposition, après marquage continu, toutes les cellules devraient être, en principe, mises en évidence, et ce d'une façon nette ; en conséquence, les objections éventuelles seraient en grande partie levées. Or, Kraus-Ruppert et al. (1973) montrent chez la Souris, dans des conditions de marquage continu, qu'il s'en faut de beaucoup que toutes les cellules névrogliques soient marquées. C'est ainsi que les index moyens de marquage, une heure après la dernière injection, se répartissent de la façon suivante : cellules névrogliques de la couche subépendymaire du ventricule latéral : 61,5 % ; oligodendrocytes (dans des sites variés du cerveau antérieur) : 24 à 36,2 % ; astrocytes : 14,3 à 30,8 % et satellites du cortex cérébral : 32,7 %. Ces index représentent des valeurs

minimales de renouvellement durant 30 jours. Bien qu'une détermination cytophotométrique eût été utile en la circonstance, ces constatations de Kraus-Ruppert et al. (1973), ainsi que celles plus antérieures de Lajtha et Gilbert (1967) renforcent notablement les explications fournies pour la courbe d'évolution du nombre de grains par noyau et ses répercussions sur le cycle cellulaire. Il est bon de mentionner que l'existence d'un renouvellement névroglie permanent rend l'analyse graphique excessivement difficile. Les figures a et b de la planche 24 (page 90), représentant des radio-autographies après injection de thymidine ^{14}C quelques heures avant la mise bas, illustrent cette idée. Leur grisé homogène traduit la généralisation des multiplications névrogliales sur l'ensemble des structures du cerveau antérieur. Il n'est pas possible ainsi d'établir par exemple l'histogramme de fréquence des cellules en fonction de leur marquage, alors que c'est le cas pour les neurones qui ne se divisent plus (Bisconte, 1973). De surcroît, à partir du 15^e jour prénatal, les multiplications névrogliales atténuent fortement l'intérêt de la radio-autographie pour l'étude de la mise en place des neurones chez les nouveau-nés, en augmentant le voile de fond. Ce stade correspond à la date présumée de l'apparition des cellules névrogliales dans le cerveau antérieur, date qui concorde avec celle relevée par Hanaway et al. dans le mésencéphale (1971).

PLANCHE 24

Résultats radio-autographiques après marquage à la thymidine ^{14}C , quelques heures avant la naissance (plaques G5 Ilford et films Kodirex).

Figure a : [^]Âge de l'injection : 6 h avant la mise bas ; délai de survie 6 jours et demi.

Figure b : [^]Âge de l'injection : 2 h avant la mise bas ; délai de survie 8 jours et demi.

Dans les deux cas, la ratte a reçu 200 μCi de thymidine ^{14}C , par voie intrapéritonéale.

Le grisé homogène témoigne de la généralisation des multiplications névrogliques dans tout le prosencéphale.

PLANCHE 24



V - Gliose de myélinisation

Après avoir identifié et quantifié l'ensemble des cellules névrogliales sur des préparations radio-autographiques du tractus optique, une méthodologie identique a été appliquée aux cellules névrogliales qui ont incorporé le précurseur marqué et se préparent ainsi à la division. Grâce à ces investigations, il est possible de connaître la nature et le nombre des cellules qui sont susceptibles de participer à la myélinisation des fibres nerveuses, en préjugant bien entendu de l'existence de ce processus aux âges envisagés, qui sera discutée plus loin. La première partie de ce diptyque que constitue la gliose de myélinisation fait l'objet du présent paragraphe (Fulcrand et Marty, 1973).

1/ Résultats

Le tableau 5 ci-dessous résume l'ensemble des résultats, cumulés, obtenus chez des animaux âgés de 2 jours et demi à 20 jours après la naissance :

Catégorie cellulaire	Nombre de noyaux comptés	Nombre re- latif de noyaux marqués	Pourcenta- ge de noyaux marqués	Index de marquage
Grands oligodendro- cytes	111	5	0,80	4,50
Moyens oligodendro- cytes	1694	146	25,60	8,60
Petits oligodendro- cytes	9429	349	61,10	3,70
Astrocytes	1496	54	9,50	3,70
Autres cellules	1205	17	3	1,40
TOTAL	13935	571	100	4,10

tableau n° 5

Les grands oligodendrocytes marqués sont, comme leurs homologues non marqués, très rares (0,80 % de l'ensemble des noyaux marqués). En revanche, les moyens oligodendrocytes marqués (Pl. 25, fig. a-d, page 93) sont deux fois plus nombreux que leurs correspondants, et surtout leur index de marquage est le plus élevé en valeur absolue (8,60). Quant aux petits oligodendrocytes marqués, ils représentent la fraction la plus forte comme l'exprime leur pourcentage de 61,10 (Pl. 26, fig. a-d, page 94). Les astrocytes marqués, pour leur part, sont en quantité comparable aux astrocytes non marqués, représentant environ le dixième de l'ensemble des cellules névrogliques répertoriées (Pl. 26, fig. c et d, page 94). L'index de marquage des astrocytes est le même que celui des petits oligodendrocytes et égal à 3,70. Enfin les autres cellules, estimées globalement, constituent les 3 % de l'ensemble des cellules marquées ; ce pourcentage entraîne un index de marquage aussi faible, le plus petit en valeur absolue, égal à 1,40. L'index de marquage pour l'ensemble des cellules névrogliques atteint le chiffre de 4,10.

2/ Discussion

A - Quantification des cellules névrogliques marquées

L'évaluation du pourcentage des diverses catégories de noyaux marqués montre que la plupart de ces éléments, environ 85 %, sont des oligodendrocytes. Parmi eux, les moyens oligodendrocytes ont l'index de marquage le plus élevé. La comparaison des index de marquage dans les trois classes, définies conformément aux critères de Mori et Leblond (1970), laisse supposer avec ces auteurs que les moyens oligodendrocytes sont avant tout des formes de division, dont les cellules filles se différencieraient en petits oligodendrocytes. Malgré ce, il est intéressant de souli-

PLANCHE 25

*Oligodendrocytes moyens marqués (thymidine ^3H ;
émulsions K2)*

Figure a : Âge de l'injection : 6 jours ; délai de survie : 6 jours
grossissement x 3500

Figure b : Âge de l'injection : 2 jours et demi ; délai de survie : 2
jours ; grossissement x 3500

Figures c et d : Âge de l'injection : 2 jours et demi ; délai de sur-
vie : 11 jours ; grossissement x 3150

Il est à remarquer que les grains d'argent sont strictement localisés sur le noyau (flèches). Autour de quelques cellules on peut distinguer une frange cytoplasmique relativement floue.

PLANCHE 25

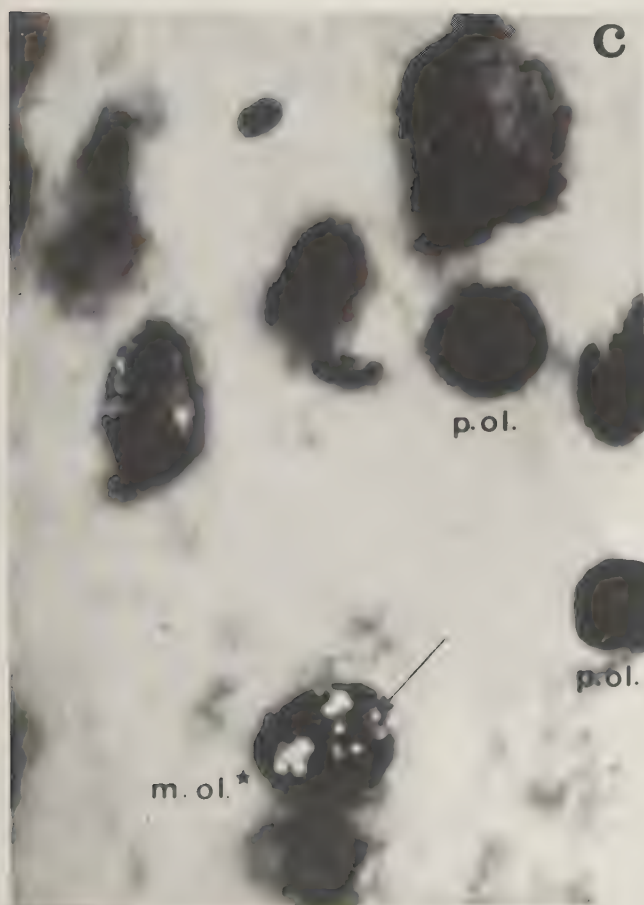


PLANCHE 26

Cellules névrogliques marquées (thymidine ^3H - émulsion K2)

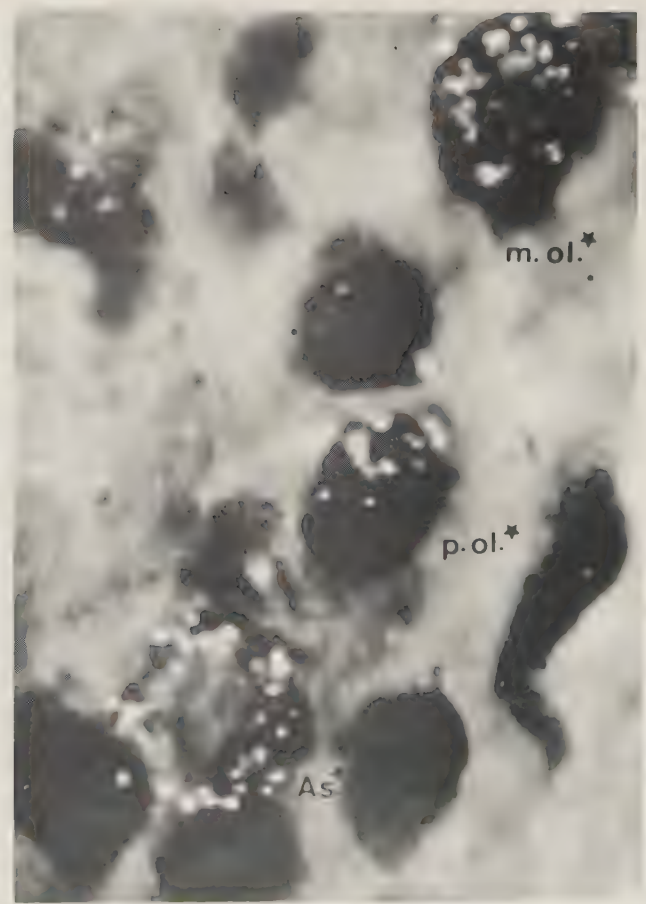
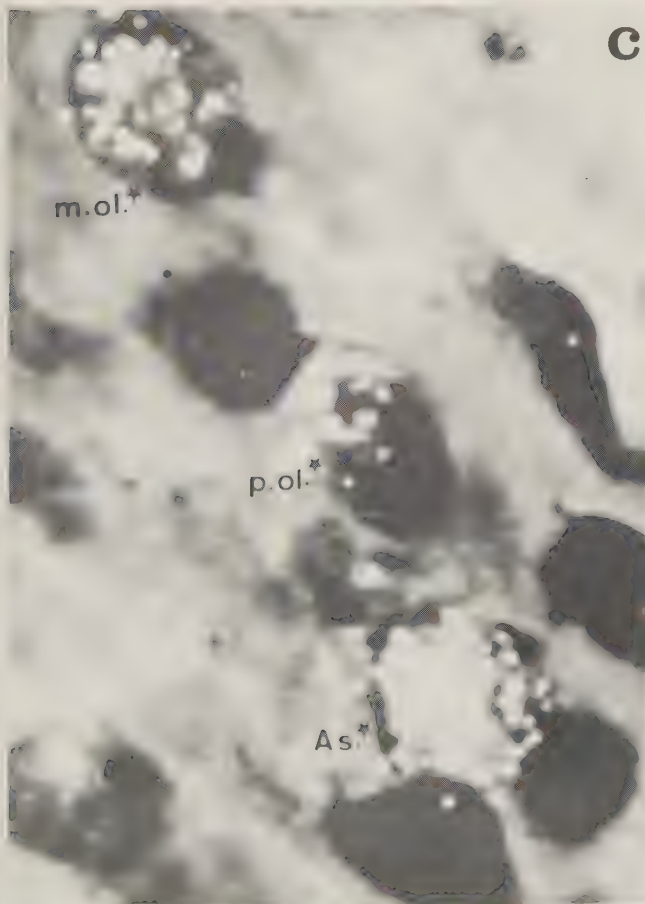
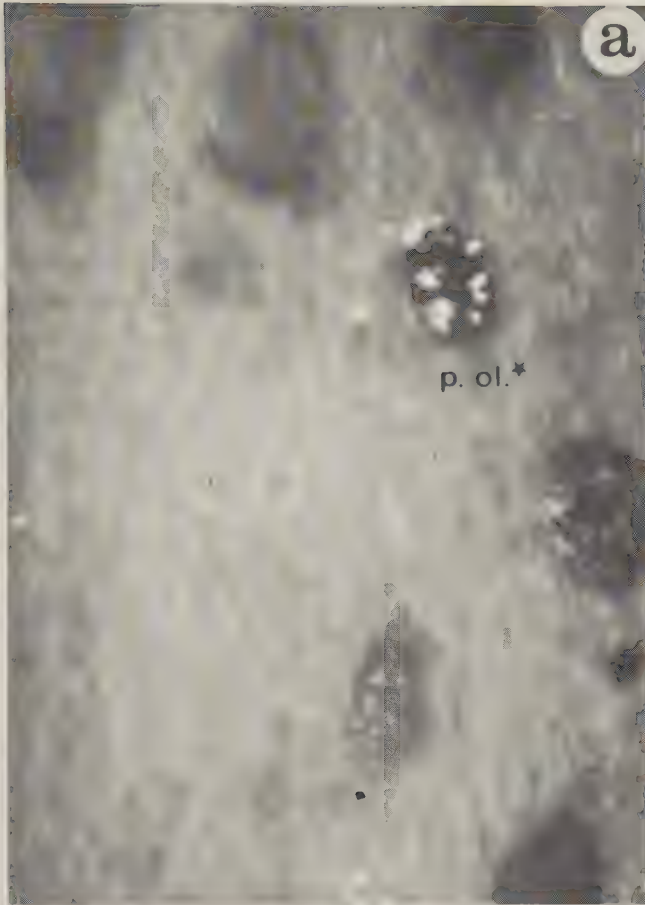
Figures a et b : Petits oligodendrocytes marqués (p.ol. *)

âge de l'injection : 2 jours et demi ; délai de survie
3 jours ; grossissements x 3550 et 4000 respectivement

Figures c et d : Même plage cellulaire photographiée dans des conditions
différentes. L'éclairement plus ou moins intense permet de modifier la brillance des grains d'argent.

âge de l'injection : 2 jours et demi ; délai de survie : 9
jours ; grossissement identique x 4000

PLANCHE 26



gnier que les petits oligodendrocytes continuent de se diviser, bien que leur taux de multiplication soit faible. L'index de marquage est également peu élevé pour les astrocytes. D'un point de vue topographique, il faut rappeler que l'index de marquage des différentes catégories cellulaires est similaire dans les trois segments du tractus optique, fait qui exprime une répartition à peu près homogène des divers éléments névrogliques. Pour la période choisie, les distributions moyennes du pourcentage des différentes catégories cellulaires autour des valeurs correspondantes indiquées sur le tableau n° 5 expriment des analogies évolutives. Il faut préciser à ce propos, en nous référant au paragraphe IV 2 (page 83), qu'à partir du treizième jour la densité névroglique décroît fortement.

B - Interprétation des résultats dans le contexte de la maturation postnatale

Dans le tractus optique du Rat, comme dans tout système constitué de fibres nerveuses, le phénomène fondamental de la maturation postnatale réside sans conteste dans sa myélinisation. Les résultats précités prennent surtout leur signification dans cette perspective : les pourcentages élevés d'*oligodendrocytes* marqués et non marqués que nous relevons dans la phase précédant le début de la myélinisation (cf. pages 55 & 91) témoignent du rôle déterminant joué dans ce processus par cette catégorie de cellules névrogliques, élément majeur de la gliose de myélinisation. La différenciation incomplète des oligodendrocytes que Bass et Young (1973) décrivent dans l'hypothyroïdie, liée à de sévères perturbations métaboliques, entraîne notamment un défaut de myélinisation flagrant. La très grande majorité des spécialistes de la névroglie sont d'ailleurs d'accord sur cette fonction attribuée aux oligodendrocytes, tout au moins en ce qui concerne les systèmes cordonaux.

Néanmoins, si une preuve supplémentaire doit en être fournie, la Souris "Jimpy" en constitue le support matériel. Farkas et al. (1972) constatent chez cet animal, affecté par un désordre neurologique génétique diagnosticable cliniquement dès le 10^e jour, que l'absence de myéline dans la substance blanche du système nerveux central exclusivement (corps calleux, fornix et capsule interne) est due à un défaut de maturation et de prolifération des oligodendrocytes. La faible densité de la névroglie, l'absence de rangées d'oligodendrocytes, la rareté et la dispersion des oligodendrocytes matures, associés à la présence d'éléments bipolaires glioblastiques et à la prolifération d'astrocytes fibreux renforcent cette conclusion. Privat et al. (1972) complètent ces observations dans le corps calleux en mettant l'accent sur le nombre relativement réduit d'axones myélinisés, l'absence de gaine de myéline à 14 jours et l'investissement des axones par des astrocytes reconnaissables à leurs grains de glycogène et leurs gliofilaments abondants, ainsi que par des prolongements de cellules microgliales avec leur appareil de golgi bien développé. Selon ces auteurs, l'arrêt à peu près total des processus de myélinisation plutôt que la destruction des gaines déjà formées est à l'origine de cette leucodystrophie héréditaire. Des résultats biochimiques obtenus par Kohlschütter et Herschkowitz (1973) et Matthieu et al. (1973) étayaient ces conclusions.

A ces constatations, s'ajoutent celles toutes récentes de Robain et Lyon (1973), sur la présence dans le corps calleux de Souris "Jimpy" de très petits axones. De tels faits soulèvent évidemment le problème des rapports exacts liant le diamètre d'un axone (diamètre critique) et le début de sa myélinisation. Dans le cas où ce diamètre ne serait pas atteint pour des raisons pathologiques, l'absence de myélinisation consécutive

pourrait être responsable d'une partie de la symptomatologie, circonstance assurément bien différente de celle qui caractérise les systèmes formés exclusivement de fibres amyéliniques, comme le nerf olfactif et peut être aussi, par analogie, sur la base de critères électrophysiologiques des systèmes non encore myélinisés (corps calleux et ensemble des radiations thalamo-corticales à la naissance chez divers Mammifères). La notion de diamètre critique a d'ailleurs récemment été remise en question par Samojewski et Friede (1968) qui estiment que, dans le tractus pyramidal, la myélinisation pourrait précéder l'augmentation de calibre du nerf, comme tendent à le confirmer les résultats d'Hirano et Zimmerman, au cours de l'intoxication par le cyanure et de l'encéphalite allergique expérimentale (1971), et ceux de Blakemore chez la Souris intoxiquée par le cuprizome (1973).

Diverses observations neuropathologiques concernant les oligodendrocytes et les astrocytes méritent enfin d'être citées à propos du rôle respectif attribué à chacune de ces deux catégories. C'est ainsi que chez la Souris "Jimpy" et dans certaines leucodystrophies non soudanophiles de l'enfant comparables par les troubles affectant la myélinisation, les astrocytes se multiplient abondamment, indépendamment de tout processus de résorption. De plus dans le syndrome cérébro-hépatorenal, -d'origine génétique-, il se produit une intense prolifération d'astrocytes riches en lipides neutres, concomitante d'un arrêt de la myélinisation (Lyon et Evrard, 1973). Ces faits suggèrent un rôle éventuel des astrocytes dans le transport métabolique, des vaisseaux vers les oligodendrocytes. Dans le même ordre d'idées, la souris mutante "Quaking" conduit à des conclusions analogues. La dysmyélinisation, manifestée par les changements de l'oligodendroglie, se traduit par une diminution du nombre des axones myélinisés et une réduction de l'épaisseur des gaines de myéline (Berger, 1970; Wiśniewski et Morell,

1971 ; Watanabe et Bingle, 1972 ; Bauman et al., 1973).

Seuls Alpers et Haymaker (1934), ainsi que Blunt et ses collaborateurs parmi lesquels Wendell-Smith accordent la priorité aux astrocytes. Dans une longue série d'articles consacrés à ce problème, ces derniers auteurs mettent l'accent sur les relations entre les astrocytes et les fibres myélinisées au niveau de la lame criblée du nerf optique (partie post-laminaire), chez le chaton en particulier. L'astrocyte immature ou astrocytoblaste est responsable de la formation de la gaine de myéline (Blunt et al., 1963, 1965, 1972 ; Wendell-Smith et al., 1964, 1965, 1966) ; cette assertion est renforcée par des observations histochimiques et enzymologiques (Blunt et al., 1967 a, b et c, 1971), qui mettent en évidence un métabolisme lipidique astrocytaire intense. Les oligodendrocytes immatures clairs et foncés ont, de leur côté, un rôle énergétique pour les neurones et leurs prolongements. Parallèlement, Fernando et Blunt (1970) attribuent aux astrocytes une fonction dans le maintien de la gaine de myéline, tandis que les oligodendrocytes interviennent dans les processus métaboliques, au niveau des noeuds. En outre, il est nécessaire d'indiquer que, si dans les conditions normales la gliose est principalement axée sur la myélinisation des fibres, elle peut également assumer d'autres fonctions. En effet, l'existence d'une gliose non myélinogène, contribuant par exemple à la fasciculation du tractus, doit être soulignée. Bien qu'il soit pratiquement difficile, sinon impossible, d'évaluer l'importance respective des deux processus prolifératifs, eux-mêmes compliqués par l'apparition du phénomène baptisé "dégliose", la gliose non myélinogène paraît quantitativement mineure dans le tractus optique ; il en va autrement dans le nerf optique, où la septalisation évoque la ressemblance avec un nerf périphérique.

C - Cinétique de la gliose de myélinisation

Les différentes courbes (Pl. 21 et 22, p. 80 & 81) montrent que les multiplications cellulaires sont plus nombreuses dans le segment antérieur du tractus que dans les deux autres. Cette constatation, ajoutée à celle de la décroissance plus précoce de la densité de l'ensemble des cellules névrogliales, tendrait à confirmer que, dans cette partie des voies optiques, la myélinisation-subséquente, comme nous le confirmerons, aux multiplications cellulaires- s'effectue en direction centripète alors que, dans la partie antéchiassmatique, elle progresse en direction de la rétine (Marty, 1962). A cette conception d'une cinétique bidirectionnelle de la myélinisation des voies optiques primaires s'opposent les observations plus récentes de Friede et Hu (1967 a et b), Friede et al. (1971). En effet ces auteurs, après avoir estimé que la cinétique pouvait s'effectuer de façon totalement centrifuge, penchent actuellement en faveur d'un processus de myélinisation relativement homogène sur l'ensemble des voies. La diminution plus précoce, dans le segment postérieur, du nombre des cellules névrogliales marquées par rapport à l'ensemble de la population cellulaire (Pl. 21, fig. c, page 80) pourrait être interprétée dans ce sens. L'établissement des corrélations exactes liant les processus de gliose, mis en évidence par radio-autographie, à la cinétique globale de la myélinisation des voies optiques primaires -objet du prochain chapitre consacré au deuxième volet du diptyque- apportera une précision supplémentaire sur la nature de cette myélinisation, dont les phénomènes de gliose constituent le préambule direct.

VI - Myélinisation

Afin de relier plus étroitement dans le temps les phénomènes cellulaires, de nature oligodendrocytaire, à la formation des gaines de myéline, un bilan histologique et histochimique a été établi dans le tractus optique. Ce bilan vise à objectiver de façon globale les étapes de la myélinisation, grâce à l'utilisation de plusieurs colorations myéliniques. Des investigations comparables ont été conduites sur divers types de Mammifères, dans les années 1930 surtout, par Tilney et Casamajor (1924) ; Flechsig (1927) ; Langworthy (1928, 1929, 1932 et 1933) ; Lucas Keene et Hewer (1931 et 1933) ; Windle et al. (1934) ; et plus récemment par Jacobson (1962 et 1963) ; Marty (1962) ; Ziolo (1965) ; Nakayama (1967) ; Yakovlev et Lecours (1967).

1/ Résultats

La plupart des colorations employées donnent, aux stades critiques envisagés, des résultats peu satisfaisants, même en prenant des précautions particulières pour prévenir la perte des lipides. La méthode d'Heidenhain-Woelcke se révèle la meilleure, par comparaison avec le noir soudan et les autres colorations choisies pour leur affinité à l'égard des lipides. La planche 27, fig. a-d (page 101) illustre la séquence d'apparition de la myéline autour des fibres nerveuses du tractus optique, entre 12 et 24 jours.

La myéline est mise en évidence pour la première fois le douzième jour ; une teinte légèrement plus grise apparaît tout d'abord au niveau chiasmatique et s'étend simultanément sur toute la longueur du tractus. Le corps genouillé latéral est atteint vers le quinzième jour. Les voies visuelles primaires présentent leur aspect définitif, nettement foncé autour

PLANCHE 27

Séquence d'apparition de la myéline dans le tractus optique (Heidenhain-Woelcke ; éclairage par transmission)

Figure a : Âge : 12 jours ; grossissement x 130

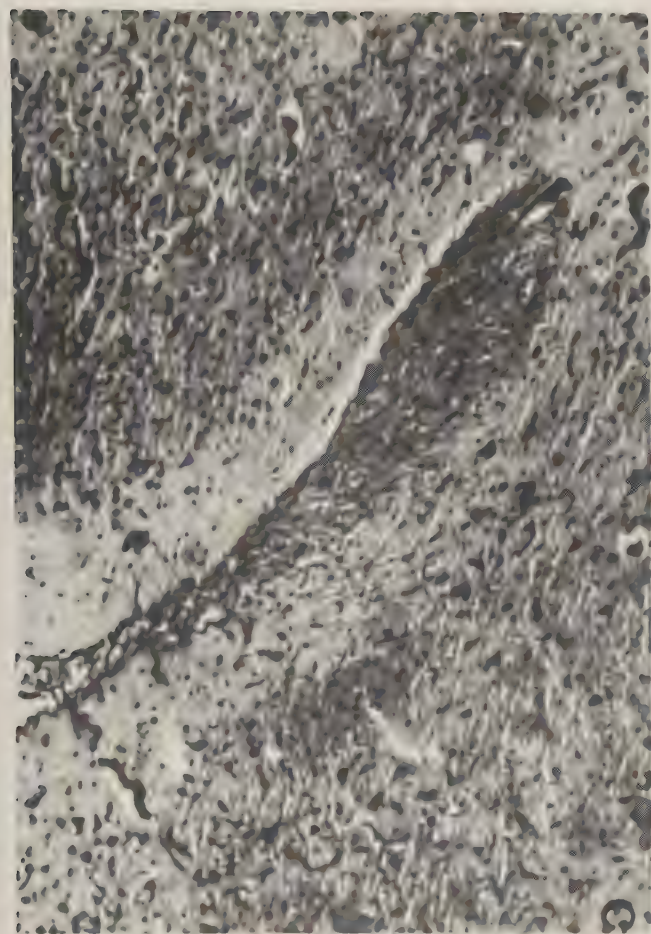
Figure b : Âge : 14 jours ; grossissement x 130

Figure c : Âge : 15 jours ; grossissement x 130

Figure d : Âge : 24 jours ; grossissement x 130

Le noircissement du tractus optique est progressif, atteignant un aspect presque définitif à 24 jours.

PLANCHE 27



du 30^e jour.

Le critère de la myélinisation achevée est celui qui caractérise un système de fibres dont l'intensité tinctoriale est identique à celle de la région correspondante d'un animal adulte pris comme standard arbitraire de comparaison (Pl. 28, page 103).

Les faisceaux de fibres nerveuses sont mis en évidence, par la méthode de Cajal-de Castro, avant l'apparition de la myéline, dès le sixième jour. Ils contiennent de petits axones, de calibre assez uniforme (Pl. 29, fig. 1 et 2, page 104).

2/ Discussion

A - Considérations générales

La méthode d'Heidenhain-Woelcke permet de définir la séquence d'apparition de la myéline, tout au moins sous un angle de caractère histochimique. En effet, comme cela a été mentionné dans la deuxième subdivision (page 11), la microscopie électronique met en évidence, à des stades plus précoces, des fibres promyéliniques qui signalent le départ de la myélinogenèse. La nécessité d'une méthode histochimique susceptible de révéler les stades initiaux de la myélinogenèse s'impose de ce fait, au prix probablement de minutieuses mises au point, qu'il s'agisse d'une modalité spécifique de détection des fibres promyéliniques ou de la transposition histochimique des procédés neurochimiques de Folch-Pi (1955) concernant les cérébrosides, à supposer qu'il y ait là deux phénomènes distincts. La réussite en la matière exige vraisemblablement que l'on domine un facteur déjà considéré comme gênant aux stades où les colorations classiques donnent des résultats, à savoir l'intensité du métabolisme dans l'ensemble des struc-

PLANCHE 28

*Coupe frontale du prosencéphale d'un animal adulte
(noir soudan B)*

Les structures constituées de fibres nerveuses apparaissent particulièrement foncées. Le tractus optique (to) se dégage nettement, ainsi que la capsule interne (CI), le fornix (fx) et la strie médullaire (Sm). Pour les autres abréviations, se rapporter à la planche 20.

PLANCHE 28

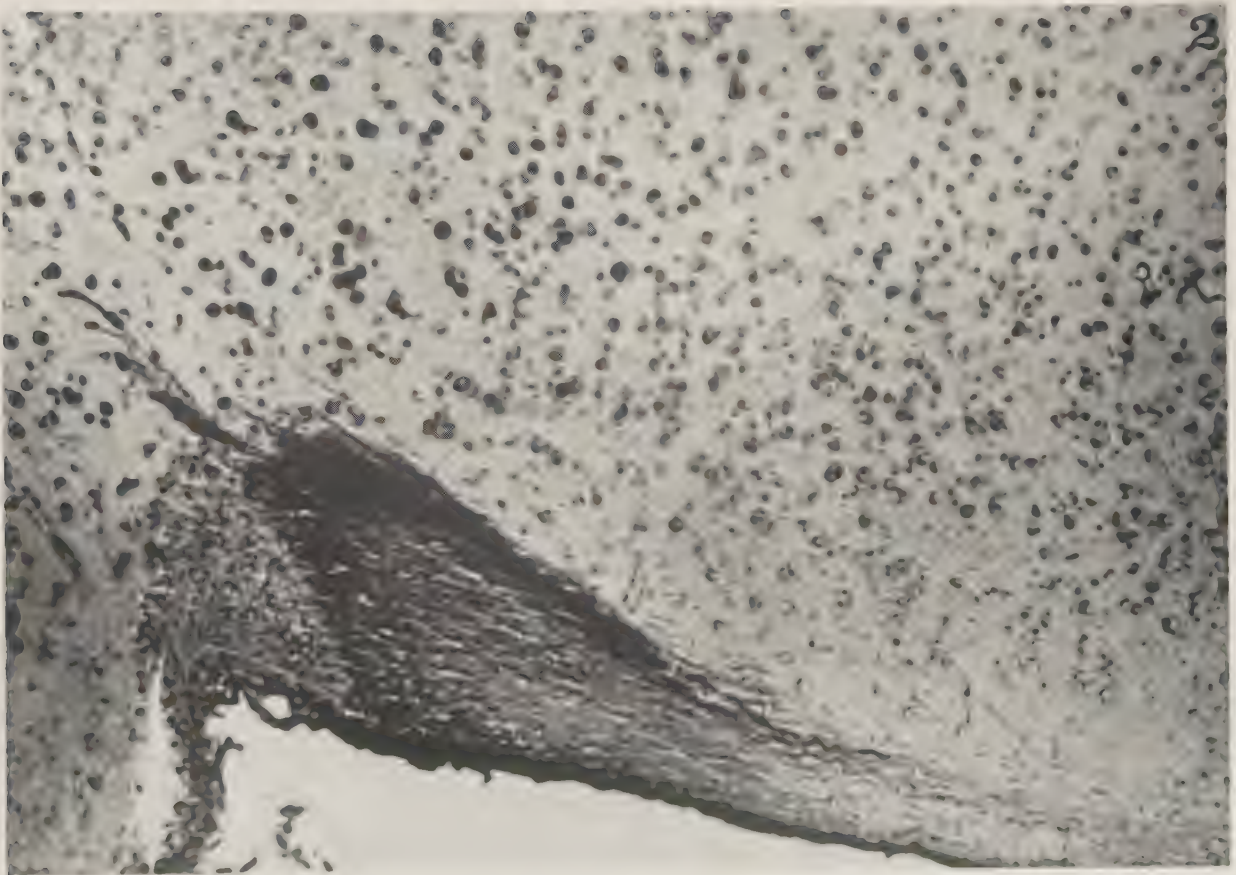


PLANCHE 29

*Faisceaux de fibres nerveuses du tractus optique (méthode
neurofibrillaire de Cajal-de Castro)*

Figures 1 et 2 : Les axones, de petit diamètre, sont mis en évidence dès
le sixième jour postnatal.
Grossissement x 150

PLANCHE 29



tures encéphaliques, au cours de la période postnatale, opinion que partage Jacobson (1963).

Des divers paramètres chronologiques de la myélinisation, le facteur séquentiel présente un intérêt largement supérieur à celui du moment où elle débute, car ce paramètre reflète fidèlement la maturation d'un système donné. La séquence peut être plus ou moins rapide. Elle l'est particulièrement dans le système visuel de l'Homme où, commençant au dernier mois prénatal, elle s'achève en quatre mois (Nakayama, 1967 ; Yakovlev et Lecours, 1967 ; Groth et al., 1970).

Macri et al. (1969) obtiennent chez le Rat des résultats un peu différents des nôtres. La myélinisation débiterait dans le nerf optique vers le deuxième jour, et le tractus optique serait myélinisé à 7 jours. Ces valeurs paraissent également prématurées par rapport à celles publiées par Iida et Schiebler (1968) et antérieurement par Jacobson (1963). Ce dernier en effet observe, chez le Rat, des fibres du tractus optique colorées au douzième jour, et nettement foncées à partir du 21^e jour, conformément à nos constatations.

Le tableau 6 ci-dessous, inspiré en grande partie de Jacobson (1963), permet de situer chronologiquement la myélinisation du système visuel par rapport à celle d'autres structures, fibreuses ou non, chez le Rat.

Structures	Début de la myélinisation	Fin de la myélinisation
Lemniscus latéral	9 j	
Fornix	12 j	
Tractus olfactif	14 j	
Commissure antérieure	17 j	
Faisceau cortico-spinal	10 j	21 j
Capsule interne	10 j	
Corps calleux	14 j	
Thalamus		44 j
Cortex		60 j

tableau n° 6

La mise en place définitive de la myéline au 20^e jour dans les voies visuelles primaires s'accompagne d'une évolution électrophysiologique selon Macri et al. (1969), exprimée par l'enregistrement de potentiels évoqués visuels de caractère adulte, à latence plus brève (Fox, 1968 ; Dmitrieva, 1969). Les corrélations anatomo-fonctionnelles entre les étapes de la myélinisation et la maturation électrophysiologique sont analysées en détail par Marty (1962) dans ses travaux sur la maturation du système visuel du Chat et du Lapin. Les modalités de la conduction -en relation avec l'allongement des fibres et l'augmentation de leur diamètre, facteurs de la diminution de la latence des réponses- et de la transmission synaptique, ainsi que les rapports concernant l'entrée en service d'un système et sa myélinisation, sont largement discutés. La myélinisation aurait un rôle primordial dans l'accomplissement des performances, bien que non indispensable à l'expression de l'activité d'un système, nombre d'entre eux devenant fonctionnels alors que la majorité de leurs fibres sont encore amyéliniques, compte non tenu des fibres C proprement dites.

B - Rapports spatio-temporels entre la gliose et la myélinisation

Les résultats obtenus apportent la preuve formelle des liens spatio-temporels étroits existant entre la gliose et la myélinisation, contrairement à certains auteurs tel Dekaban, 1956. Il est maintenant absolument certain que les multiplications névrogliques, mises en évidence par radioautographie, participent à l'élaboration des gaines de myéline. La succession dans le temps des deux événements principaux, d'une part, du pic de la densité cellulaire névroglique à 9 jours et demi et, d'autre part, du début de la myélinisation à 12 jours, ne laissent planer aucun doute

sur ces interrelations que la technique radio-autographique a objectivées de façon péremptoire. Le terme adopté de gliose de myélinisation est ainsi pleinement justifié.

C - Cinétique de la myélinisation

En complément des indications apportées dans le paragraphe V2 B (page 99) sur la cinétique de la gliose de myélinisation, quelques considérations se dégagent de l'analyse de la myélinisation elle-même.

Dans le tractus optique, la myélinisation se développe apparemment de façon centripète, du chiasma vers les centres supérieurs, conformément aux conclusions fournies pour le même système par la plupart des auteurs, ainsi que pour d'autres systèmes afférents corticaux tel le système auditif (cf. Pujol, 1971). Deuxièmement, la myélinisation s'effectue de manière homogène ; cette observation vérifie le pronostic qui se dégageait de l'interprétation des courbes des planches 21 et 22 (pages 80 & 81). Le point de départ axial ou paramédian de la myélinisation décrit par Tilney et Casamajor (1924) sur coupes transversales de nerf optique, et Marty (1962) sur certaines commissures, n'est pas retrouvé ici.

En revanche, dans le nerf optique, s'opposent deux conceptions ; les embryologistes, avec à leur tête Tilney et Casamajor (1924), Langworthy (1928) considèrent que le processus de myélinisation est de nature centripète ou cellulifuge, c'est-à-dire évolue du globe oculaire vers le chiasma, tandis que les ophtalmologistes penchent pour un processus centrifuge ou cellulipète se dirigeant du chiasma vers le globe oculaire, à contre-courant. Parmi ces derniers, citons Beauvieux (1947)-qui fait entrer en ligne de compte des fibres thalamo-rétiniennes-, Sattler (1915) puis Brembridge (1956), qui reprennent des conclusions plus anciennes de Westphal

(1897), et auxquels se joint Marty (1962, cf. la notion de cinétique bidirectionnelle). Plus récemment, à la suite d'observations d'ordre biochimique, Matheson (1971) a mis en évidence un gradient de myélinisation centripète dans le nerf optique chez le Rat. Cet auteur fait remarquer d'autre part que les résultats histologiques n'indiquent pas de différence significative sur toute la longueur du nerf, ce qui est absolument conforme avec nos conclusions.

2^e Partie : Aspects réactionnels de la névrologie

Après l'analyse de la prolifération névroglie dans des conditions physiologiques normales, la quantification des conséquences histologiques de l'occlusion palpébrale sur le développement postnatal du nerf optique (Pl. 30, page 110), d'une part, et de l'énucléation, d'autre part, est apparue comme une étape complémentaire indispensable ; la recherche d'éventuelles interférences des processus de prolifération y a été associée (Fulcrand et al., 1973).

La prolifération cellulaire a déjà été mise en évidence par plusieurs auteurs en neuropathologie expérimentale, au niveau du système visuel notamment, après interventions oculaires (De Long et Sidman, 1962 ; Wiesel et Hubel, 1963 a et b, 1965 a et b ; Altman et Das, 1964 ; Kupfer et Palmer, 1964 ; Gaze et Watson, 1968 ; Margolis et al., 1968 ; Fiková et Hassler, 1969 ; Guillery et Stelzner, 1970 ; Kreutzberg et al., 1970 ; Kumamoto, 1970 ; Sterling et Wickelgren, 1970 ; Vaughn et al., 1970 a et b ; Guillery, 1971, 1972 et 1973 ; Kanagasuntheram et al., 1971 ; Skoff et Vaughn, 1971 ; Sosula et Glow, 1971 ; Chow et Stewart, 1972 ; Ganz, 1972 ; Kelly et Cowan, 1972 ; Wong-Riley, 1972 ; Yinon et Auerbach, 1973).

1/ Résultats

Les comptages sont effectuées à trois niveaux constants, proximal, médian et distal, par rapport au globe oculaire (Pl. 30) ; les valeurs

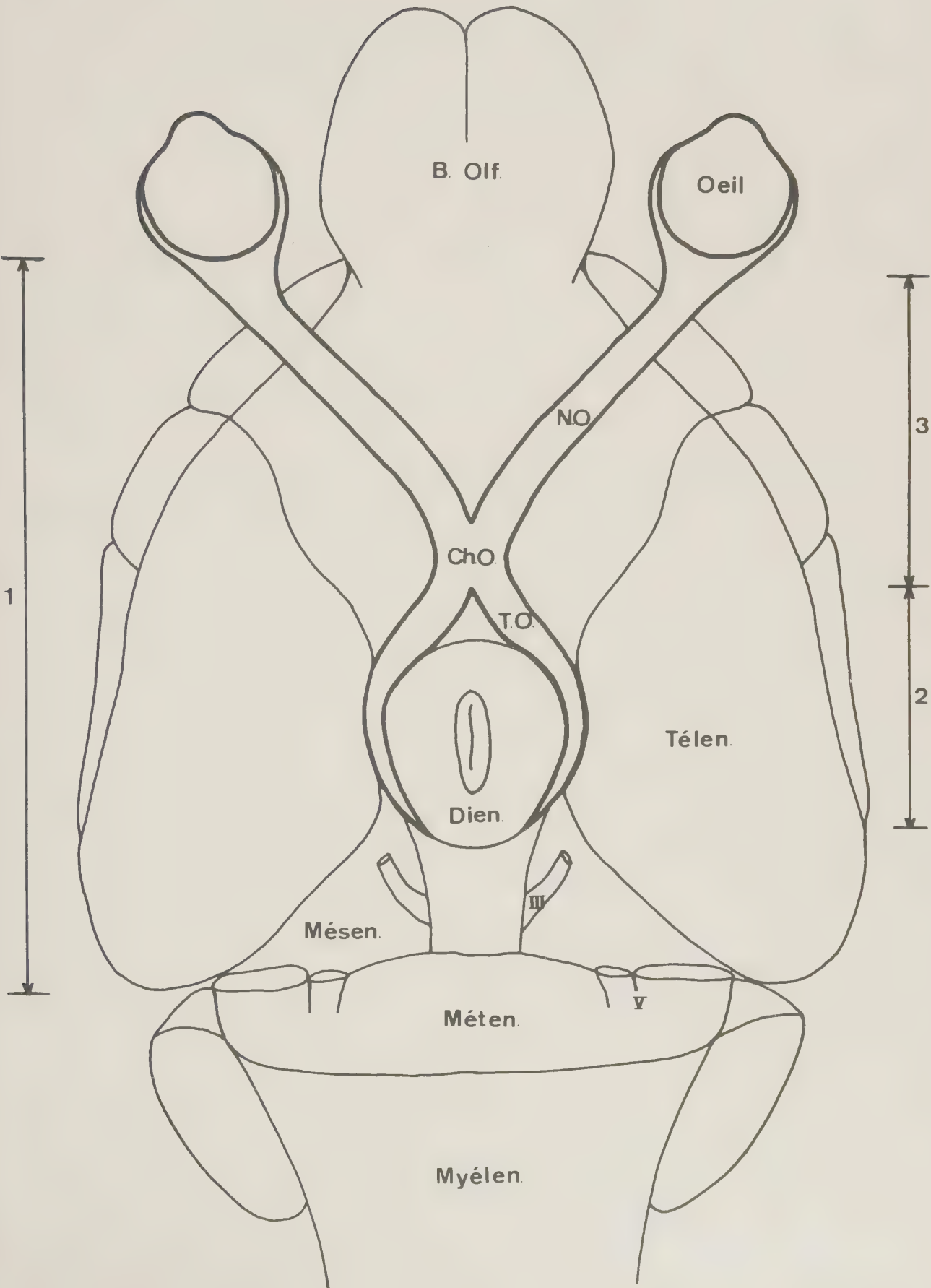
PLANCHE 30

Diagramme des voies optiques primaires

Nomenclature utilisée :

B.Olf	bulbe olfactif
N.O	nerf optique (3)
Ch.O	chiasma optique
T.O	tractus optique (2)
Télen	télencéphale (1)
III	nerf moteur oculaire commun
V	nerf trijumeau

PLANCHE 30



indiquées représentent la moyenne des résultats comparables aux trois niveaux choisis pour chaque nerf. Ces valeurs concernent le nombre global de cellules et la surface du nerf optique, calculée à partir d'un réseau quadrillé, en fonction de la modalité opératoire, d'une part, et de l'âge de l'animal, d'autre part. Elles sont portées sur le tableau 7 page 115. Deux faits principaux se dégagent de sa lecture : premièrement, dans le sens horizontal, une très forte *prolifération cellulaire* chez les animaux énucléés ; deuxièmement, dans le sens vertical, une décroissance de la densité cellulaire, accompagnée d'une augmentation de la surface de section du nerf relativement proportionnelle.

1/ Evolution de la densité cellulaire et de la surface du nerf optique en fonction de la modalité opératoire choisie (Pl. 31 - 33)

Les résultats obtenus pour les trois catégories d'animaux, opérés et témoins, sont comparés entre eux, à chaque stade analysé. C'est ainsi qu'à 35 jours, la densité cellulaire est nettement plus élevée chez les animaux énucléés que chez les animaux occlus et les témoins (Pl. 31, fig. a-d, page 112). Chez ces derniers, la densité cellulaire ne représente en effet que les 26,3 et 25,7 % de celle qui caractérise les animaux énucléés. A 40 jours, ces pourcentages sont respectivement de 27,9 et 27,1 %, tandis qu'ils atteignent 37,2 et 36,6 % à 45 jours (Pl. 32, fig. a et d, page 113). Enfin à 55 jours, compte tenu de la décroissance plus accusée de la densité chez les animaux énucléés, les rapports augmentent jusqu'à 64 et 63,4 % pour les deux catégories d'animaux, occlus et témoins (Pl. 33, fig. a-d, page 114). Il est intéressant de noter à tous les stades les faibles différences relevées entre les animaux occlus et les témoins, ces derniers présentant toutefois une densité cellulaire plus faible.

PLANCHE 31

Coupes transversales de nerfs optiques (violet de crésyl ; éclairage par transmission)

Figures a et c : Animal témoin

Figures b et d : Animal énucléé

Âge au moment de l'intervention : 5 jours ; âge au moment
du sacrifice : 35 jours ; grossissements x 290 (a et b) ;
x 820 (c et d)

Les différences de surface et de densité sont incontestables entre les animaux témoins et les animaux énucléés.

PLANCHE 31

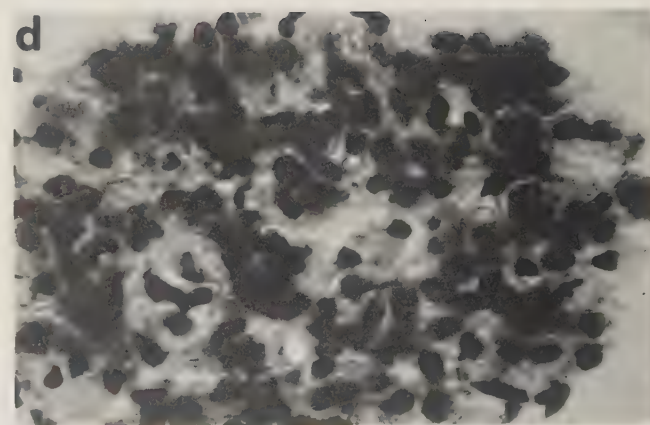
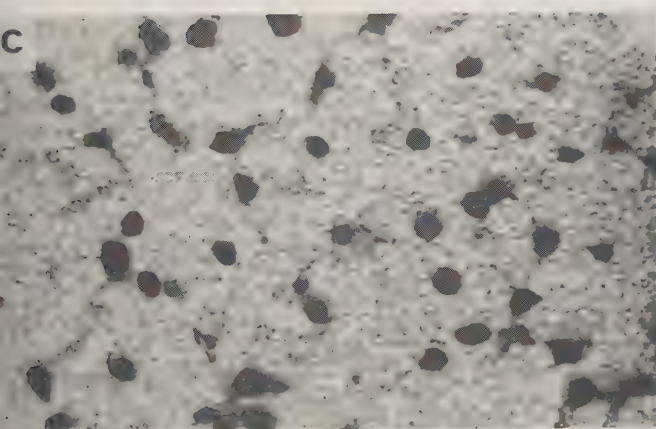
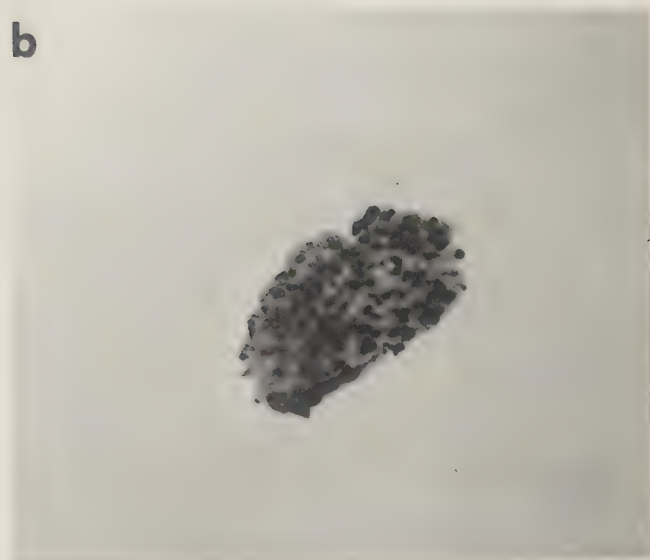
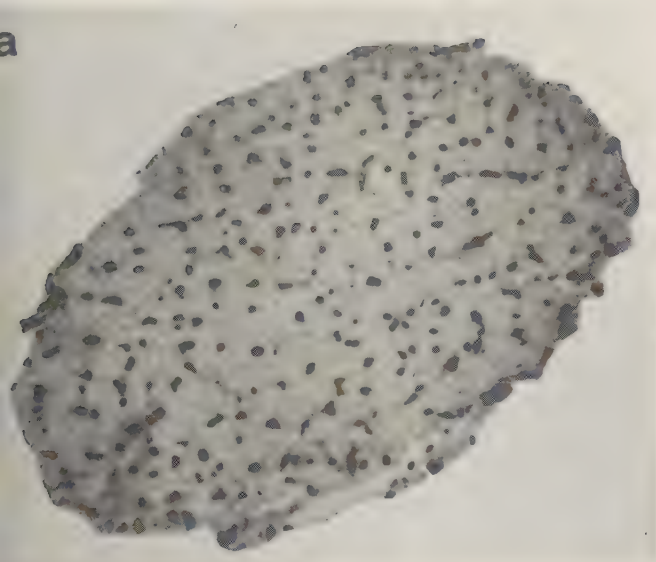


PLANCHE 32

*Coupes transversales de nerfs optiques (violet de crésyl ; éclairage
par transmission)*

Figures a, b, c et d : Comparaison entre l'animal témoin (a et c) et
l'animal énucléé (b et d). Âge au moment de l'intervention
15 jours ; âge au moment du sacrifice : 45 jours ; grossis-
sment x 250 pour a et b ; x 1300 pour c et d.

PLANCHE 32

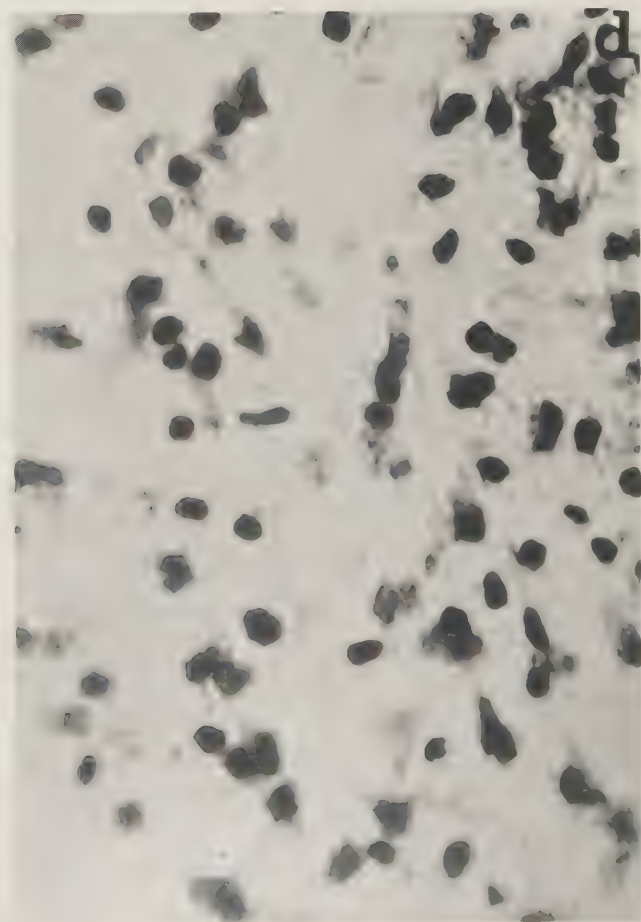
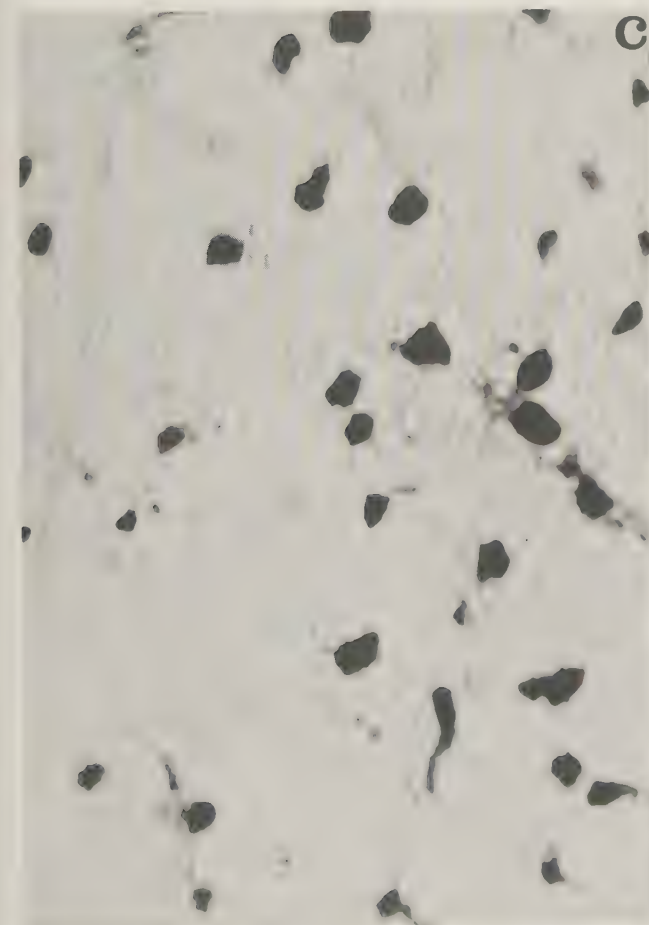
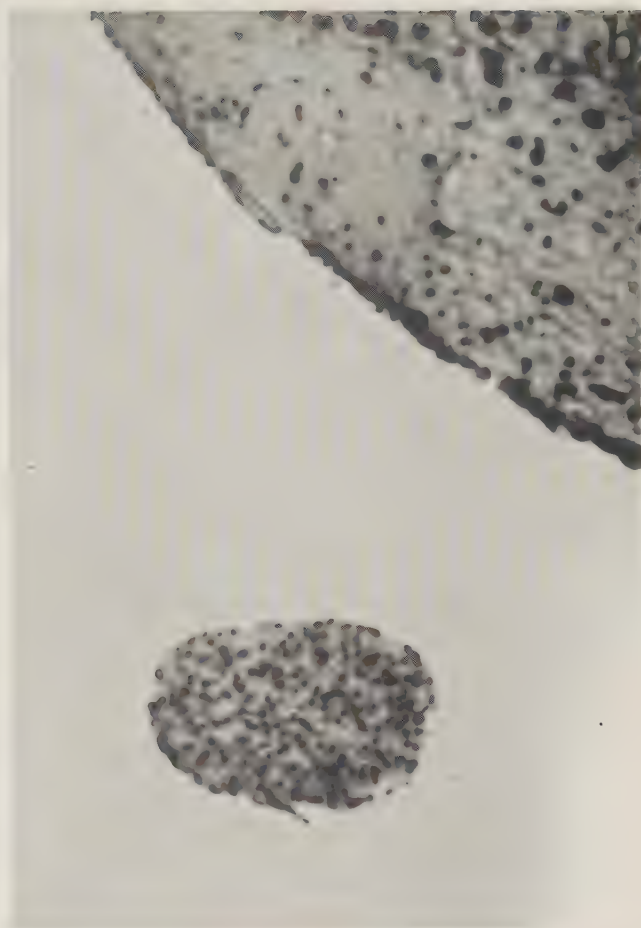


PLANCHE 33

*Coupes transversales de nerfs optiques (violet de
crésyl ; éclairage par transmission)*

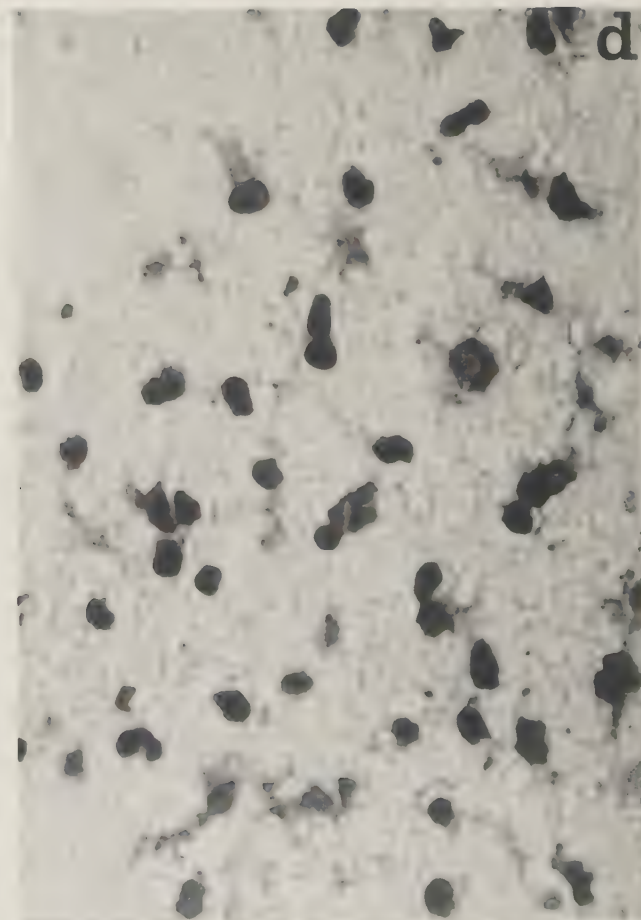
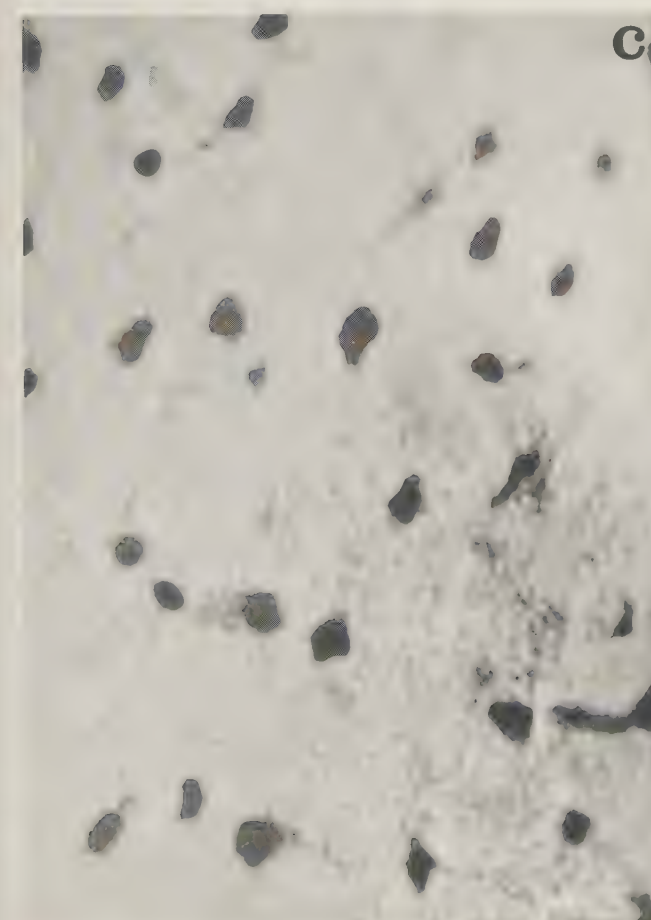
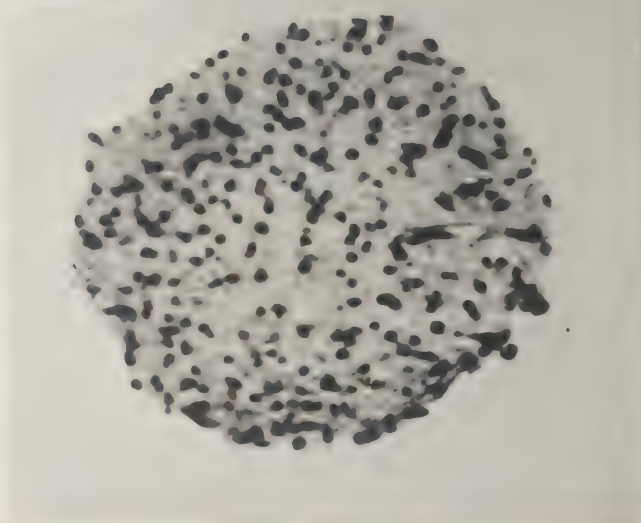
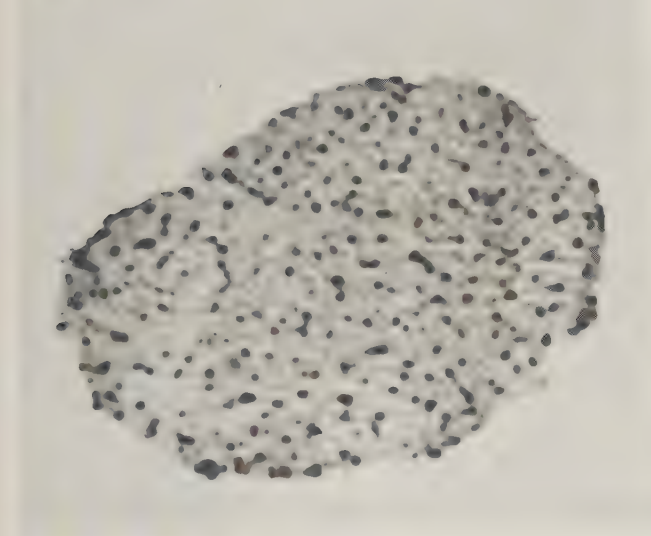
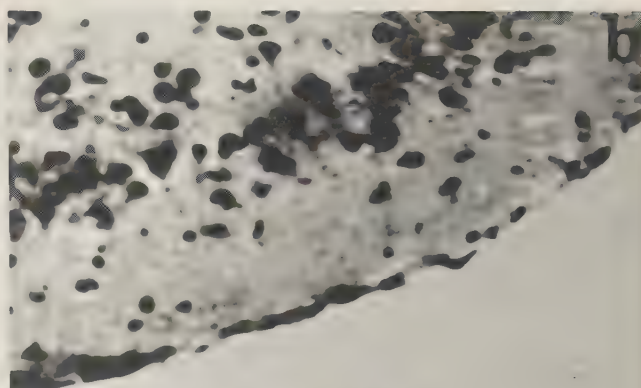
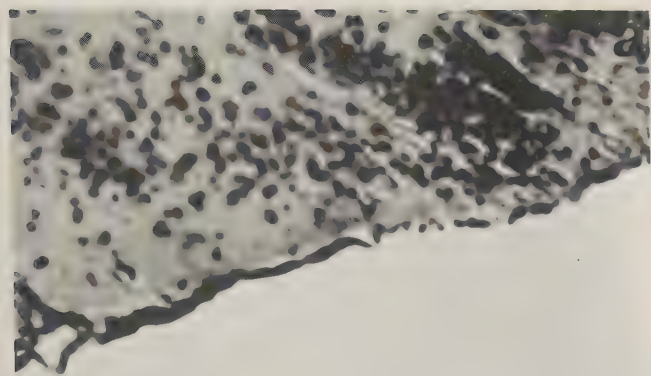
Figures a et c : Animal témoin

Figures b et d : Animal énucléé

Âge au moment de l'intervention : 25 jours ; âge au moment
du sacrifice : 55 jours ; grossissements x 200 pour a et b ;
x 1300 pour c et d.

Les surfaces des animaux témoin et énucléé sont comparables.

PLANCHE 33



En ce qui concerne la surface analysée dans les mêmes conditions, elle évolue en sens contraire. Les calculs des pourcentages par rapport à la plus grande surface -celle des animaux témoins- donnent pour des animaux énucléés à 35 jours 10,4 % (Pl. 31, fig. a et b), à 40 jours 10,5 %, à 45 jours 31,2 % (Pl. 32, fig. a et b, page 113) et enfin à 55 jours 84,2 % (Pl. 33, fig. a et b, page 114). Les surfaces des animaux occlus et celles des témoins sont statistiquement comparables aux différents stades, excepté à 35 et 40 jours où la diminution chez les animaux occlus par rapport aux témoins est de l'ordre de 5 %.

Age de l'animal		Témoin		Occlus		Enucléé	
au moment de l'opération	au moment du sacrifice	D	S	D	S	D	S
5 j	35 j	3600	0,080	3685	0,076	14000	0,0083
10 j	40 j	3600	0,079	3700	0,075	13270	0,0083
15 j	45 j	3150	0,080	3200	0,080	8600	0,025
25 j	55 j	2600	0,095	2630	0,095	4100	0,080
	adulte	2030	0,12				

D = densité : nombre de cellules par mm^2

S = surface en mm^2

tableau n° 7

2/ Evolution de la densité cellulaire et de la surface du nerf optique en fonction de l'âge de l'animal (Pl. 34)

Les résultats font apparaître dans la plupart des cas une diminution de la densité en fonction de l'âge de l'animal. Chez les animaux opérés, la décroissance comporte deux étapes principales. La première se situe entre 40 et 45 jours, la deuxième entre 45 et 55 jours. Entre 40 et 45 jours, la chute de densité atteint en moyenne 35,2 % pour les animaux énucléés et 13,5 % pour les animaux occlus, tandis qu'elle représente 12,5 % environ chez les témoins. Entre 45 et 55 jours, ces valeurs sont respectivement de 52,3 %, 17,80 % et 17,5 %. Si les estimations portent sur la totalité de la période choisie, entre 35 et 55 jours, les pourcentages évalués à 70,7 , 28,6 et 27,8 traduisent des différences analogues. Ces résultats mettent l'accent sur la décroissance importante de la densité cellulaire en fonction de l'âge de l'animal, particulièrement chez les animaux énucléés. A ce propos, pour cette catégorie, il n'est pas inutile de rappeler que la diminution de densité est d'autant plus grande que son taux d'augmentation par rapport à l'animal témoin du même âge est plus élevé. A 35 jours, ce coefficient est de 3,9 ; à 40 jours de 3,7 ; à 45 jours de 2,7 et à 55 jours de 1,6. La comparaison de ces coefficients exprime ainsi une densité supérieure chez les animaux ayant été opérés aux stades précoces, à 5 et 10 jours après la naissance.

La diminution de densité est en relation directe avec l'augmentation de la surface du nerf optique, comme nous l'avons vu. Les observations recueillies permettent de déduire le rôle essentiel de l'augmentation de la surface du nerf sur la densité cellulaire, sans négliger pour autant les fluctuations du nombre total des cellules. La détermination du coefficient d'augmentation de la surface est une illustration de ce fait, particulière-

PLANCHE ~~36~~

*Courbes d'évolution de la densité cellulaire en fonction de l'âge
de l'animal*

tirets et pointillés : animaux énucléés

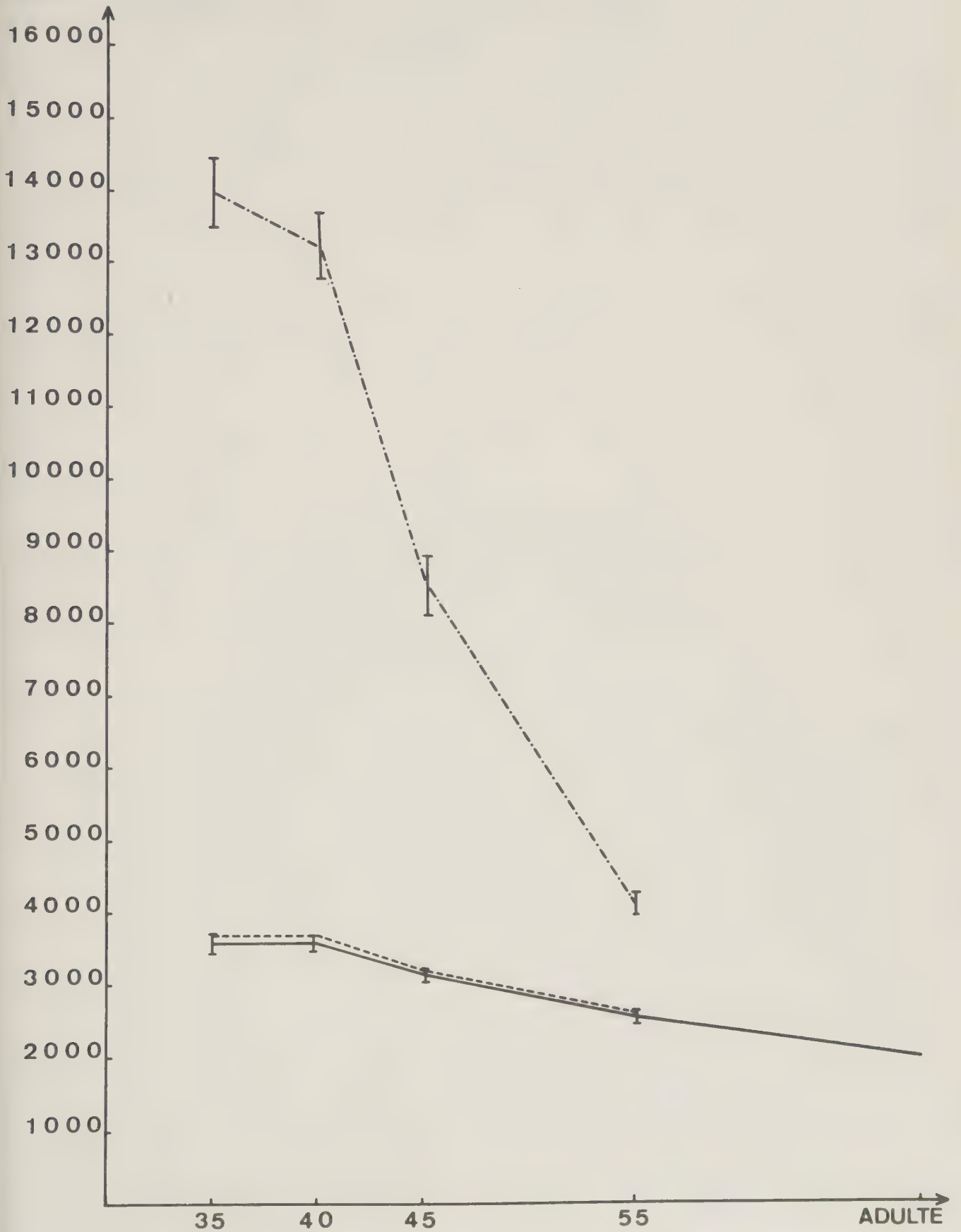
tirets : animaux occlus

traits pleins : animaux témoins

L'intervalle de confiance n'est pas figuré pour les animaux
occlus.

PLANCHE 34

DENSITE CELLULAIRE



AGE DE L'ANIMAL EN JOURS

(DUREE DE SURVIE CONSTANCE = 30 JOURS)

ment caractéristique chez les animaux énucléés. Entre 40 et 45 jours, ce coefficient est de 3 chez les animaux énucléés, de 1 chez les animaux occlus et les témoins ; entre 45 et 55 jours, ce coefficient passe à 3,2 chez les animaux énucléés et à 1,2 chez les animaux occlus et les témoins. Entre 35 et 55 jours, les valeurs correspondantes de ce coefficient atteignent successivement 9,6 , 1,3 et 1,2. La discordance qui peut exister entre les variations concernant la diminution de densité et l'augmentation de surface pour une section de nerf donnée s'explique par les fluctuations concomitantes du nombre de cellules.

2/ Discussion

L'analyse des résultats conduit à considérer séparément les répercussions histologiques de l'occlusion palpébrale et celles de l'énucléation sur le développement postnatal du nerf optique.

1/ Occlusion palpébrale

Chez les animaux dont les yeux ont été occlus, les valeurs obtenues montrent que l'absence plus ou moins totale de stimulation visuelle entraîne une augmentation de la densité des éléments cellulaires, essentiellement représentés par de la névroglie, et corrélativement une diminution du diamètre du nerf optique, exprimé par la surface de sa section. Les fluctuations de ces deux paramètres, densité et surface, sont toutefois très légères et varient en fonction du moment de l'intervention. C'est ainsi que l'influence de l'occlusion est d'autant plus sensible qu'elle est pratiquée plus près de la naissance, à un stade qui correspond au début du processus de gliose de myélinisation. Les calculs des pourcentages de la densité cellulaire des animaux occlus et des témoins par rapport aux

animaux énucléés présentent des différences en faveur des animaux occlus, de l'ordre de 1 à 2 % suivant les stades de développement envisagés. Néanmoins, ces différences ne sont pas statistiquement significatives. Sur un plan plus général, la densité cellulaire décroît en fonction de l'âge de l'animal dans des proportions plus ou moins grandes suivant le groupe d'animaux considérés, opérés ou non.

Parallèlement, les comparaisons des surfaces chez les animaux occlus et les témoins expriment des différences identiques, à 35 et 40 jours. A ces stades en effet, la diminution de surface chez les animaux occlus par rapport aux témoins est de l'ordre de 5 %. Cette très légère différence situe nos résultats entre la valeur de 10 % notée par Wendell-Smith (1964) chez le Rat et les résultats négatifs indiqués par Altman (1962) chez le Pigeon ; mais il convient de signaler pour ce dernier que ses expériences ont été réalisées chez des animaux adultes, dont la croissance des nerfs optiques était par définition terminée. L'occlusion oculaire a donc une influence non négligeable, quoique quantitativement minime, sur le développement du nerf optique. Cette conclusion confirme les observations de Terry et al. (1962), Gyllenstein et al. (1966) et Fífková (1970), qui constatent que, chez l'animal privé de lumière, le processus de croissance du nerf optique subit quelques altérations, sans être stoppé. Cependant si la privation visuelle est maintenue plus longtemps, deux mois par exemple, les effets sont irréversibles (Lund 1972 ; Lund et Lund, 1972).

D'un point de vue physiologique, la gravité de ces altérations est liée, d'après Hubel et Wiesel (1970), au moment de l'intervention. Si celle-ci se produit pendant la période dite de susceptibilité, échelonnée chez le chaton de la 4^e semaine à la 6^e semaine postnatale, les troubles de l'occlusion sont plus profonds et plus longs. Sherman et al. (1972 a

et b) confirment ces observations. Il est intéressant d'indiquer avec Hendrickson et Cowan (1971) que la 4^è semaine postnatale est, chez le Lapin également, une période critique dans le développement du système visuel. Ces auteurs étudiant, après injection intra-oculaire de leucine tritiée, les changements de la vitesse du transport axoplasmique dans le nerf et le tractus optiques, constatent que la phase rapide augmente pendant la 4^è semaine jusqu'à atteindre 200 mm par jour, tandis que la phase lente décline soudainement, à ce moment-là, de 5 mm à 2 mm par jour. L'établissement au cours de la 4^è semaine postnatale de connexions synaptiques définitives expliquerait ces modifications. Au sujet du flux axonique des protéines, il est utile de noter que de nombreux travaux réalisés sur les voies optiques primaires (McEwen et Grafstein (1968) chez les Poissons; Karlsson & Sjöstrand (1968 et 1971) chez le Lapin ; Casola et al. (1969) chez le Rat ; Cuénod et Schonbach (1971) chez le Pigeon ; Bondy (1972) chez le Poulet ; La Vail et La Vail (1972) chez le Poulet ; Jarlsted et Karlsson (1973) chez le Lapin) soulignent l'existence de deux phases au moins : une rapide dont la vitesse varie de 100 à 1000 mm par jour, et une lente qui chemine à la vitesse de 0,4 à 2 mm par jour. Selon Droz et Baron-des (1969), Koenig et Droz (1971), la radio-autographie quantitative montre que le flux axonique rapide achemine vers les zones présynaptiques des terminaisons nerveuses d'importantes quantités de protéines qui s'y accumulent pour quelques heures, tandis que le flux lent participe au renouvellement des protéines, des mitochondries et de l'axoplasme.

D'autre part, Kobayashi et Van Hof (1972) montrent que, chez le Lapin, après exposition à la lumière durant 1 et 2 mois, consécutivement à une période de 7 mois de séjour dans l'obscurité totale, la lumière joue un rôle important dans l'activation et le développement des voies visuel-

les (action sur les synapses et les circuits interneuroniques). Bonaventure et al. (1971) aboutissent à des conclusions analogues.

2/ L'énucleation

Au contraire, les conséquences histologiques de l'énucleation sur le développement postnatal du nerf optique sont importantes à la fois sur les plans qualitatif et quantitatif. C'est ainsi que, chez les animaux énucléés, les comptages indiquent une intense *prolifération cellulaire* qui s'accompagne d'une diminution de surface proportionnelle. Cette prolifération est d'autant plus forte que l'énucleation est effectuée à un stade plus précoce ; en effet, à 35 jours, sa valeur est supérieure au double de celle notée à 55 jours (3,9 au lieu de 1,6).

Le même phénomène caractérise la diminution de surface, celle-ci étant d'autant plus importante que l'opération est effectuée plus près de la naissance. C'est ainsi qu'à 35 jours la surface moyenne du nerf optique de l'animal énucléé représente le dixième environ de celle de l'animal témoin. Cette relation entre le moment de l'intervention et ses conséquences histologiques peut s'expliquer par le fait que, aux premiers stades postnataux, le nerf optique en pleine maturation est plus sensible aux perturbations ou lésions qui l'affectent. Aux stades plus tardifs, au fur et à mesure que le nerf achève son développement objectivé par l'acquisition du diamètre définitif de ses fibres et de leur gaine de myéline, les conséquences de l'intervention vont en s'atténuant.

Dans un même ordre d'idées, un autre fait mérite également d'être noté ; il concerne la nature des changements provoqués au niveau des fibres nerveuses, dont la grande majorité croisent la ligne médiane au niveau du chiasma optique (Giolli et Guthrie, 1969). Ces modifications, en effet,

ne présentent pas toujours la même intensité aux différents stades envisagés. Elles traduisent, selon toute vraisemblance, la disparition par dégénérescence wallérienne d'un contingent important de fibres nerveuses (Pl. 35, fig. 1 et 2, page 123). Des comptages en cours sur coupes transversales et longitudinales, de la cavité orbitaire au chiasma optique -utilisant des techniques histologiques classiques y compris les imprégnations par l'argent ammoniacal- permettront de savoir le nombre de fibres, myélinisées ou non (Bruesch et Arey, 1942 ; Matheson, 1970), atteintes par le processus de dégénérescence, compte non tenu de l'existence éventuelle de fibres rétinopètes. De surcroît, ces comptages permettront de vérifier si les grosses fibres dégènèrent les premières (Van Crevel et Verhaart, 1963), et également d'apprécier les modalités de la cinétique par comparaison avec les résultats de Ramon y Cajal (1928), de Schlote (1971) consacrés à la réactivité du nerf optique de Rat en cours de dégénérescence wallérienne, ainsi qu'avec la récente publication de Donat et Wisniewski (1973) concernant les aspects spatio-temporels de la dégénérescence wallérienne dans le nerf sciatique chez le Lapin et le Chat. Au sujet de cette cinétique, les densités à peu près identiques calculées pour les trois niveaux choisis n'impliquent pas de gradient réactionnel, quant au nombre des cellules en tout cas.

Selon Pecci-Saavedra et al. (1969 a et b, 1971 et 1973), la dégénérescence "sombre", qui caractérise la dégénérescence adulte 4 à 6 jours après l'énucleation, apparaît tôt, à 48 et 72 heures, chez le chaton de 30 jours. Cette précocité serait plutôt le fait d'un flux axoplasmique, plus rapide chez les jeunes animaux, et d'influences trophiques (Lasek, 1970) que le résultat d'une distance neuronique plus courte. Dans ce contexte, l'énucleation peut servir à évaluer les étapes de la maturation

PLANCHE 35

*Coupes longitudinales de nerfs optiques
(hématoxyline)*

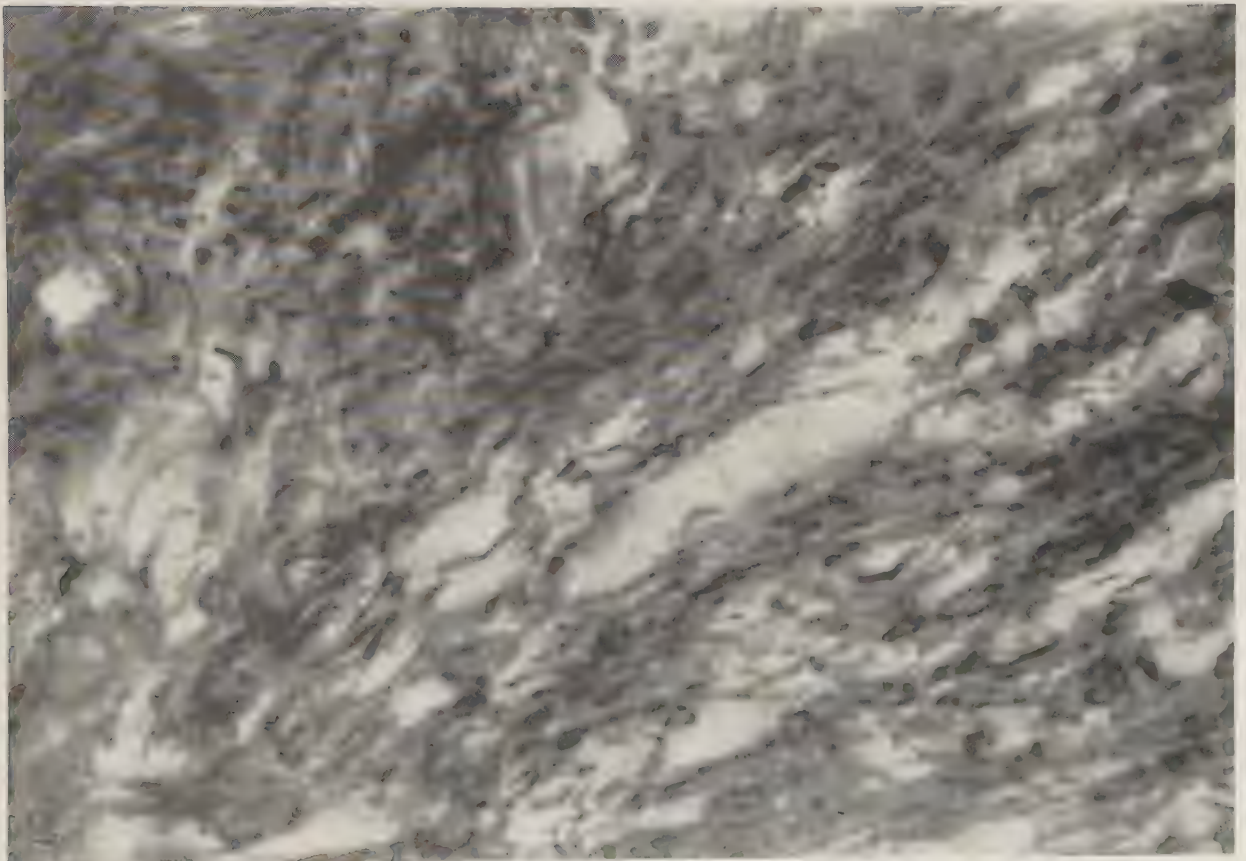
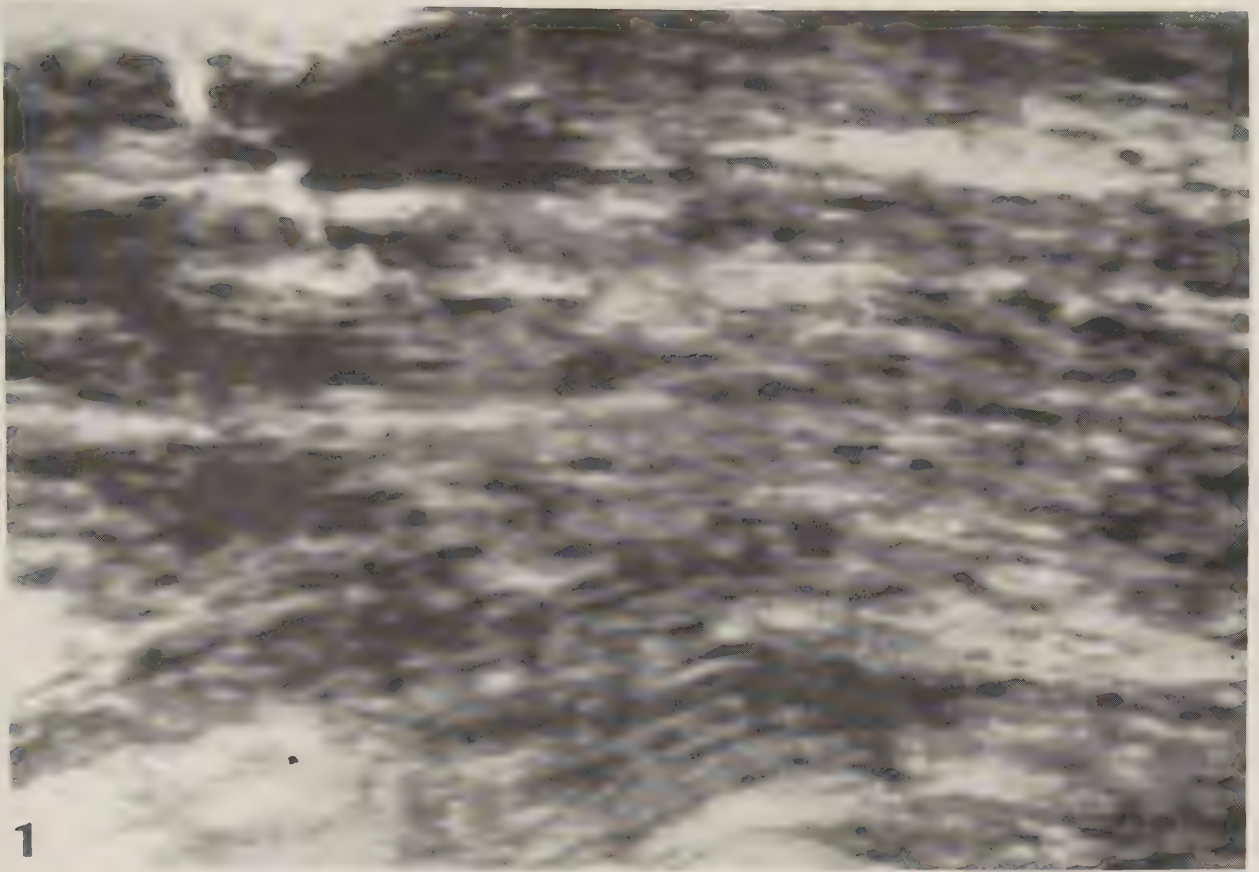
Figure 1 : animal témoin

Figure 2 : animal énucléé

Âge au moment de l'intervention : 10 jours ; âge au moment
du sacrifice : 40 jours ; grossissement x 1250.

La dégénérescence wallérienne est caractérisée par l'aspect
lacuneux de la figure 2.

PLANCHE 35



nerveuse (Leonard, 1973).

3/ Interférence des processus de prolifération

Deux faits histologiques fondamentaux caractérisent les changements du nerf optique consécutifs à l'énucléation, à savoir une intense prolifération cellulaire, accompagnée d'une réduction notable de la surface de section du nerf. Ces manifestations sont particulièrement importantes après la naissance. Or, la période postnatale précoce est marquée par le déclenchement de la myélinisation, qui est précédée d'une forte poussée névroglie qualifiée de gliose de myélinisation. Ce phénomène a été quantifié chez l'animal normal dans le second segment de la voie optique primaire du Rat. A ce niveau, la densité névroglie devient importante dès la fin de la première semaine de la vie postnatale et reste telle jusqu'au 13^e jour, présentant un pic à 9 jours et demi. Cette densité décroît fortement vers la fin de la deuxième semaine postnatale ("dégliose"). Quant au nerf optique lui-même, la gliose de myélinisation y atteint son maximum dès la fin de la première semaine postnatale.

Chez les animaux énucléés, pour une période de survie constante de 30 jours, le calcul des coefficients d'augmentation de la densité cellulaire montre une relative stabilité entre 35 et 40 jours, suivie d'un déclin constitué de 2 phases, la première jusqu'à 45 jours, la deuxième plus abrupte de 45 à 55 jours. Plusieurs auteurs, ayant choisi des périodes de survie postopératoires différentes, constatent, chez des animaux adultes, que cette prolifération, particulièrement nette à partir du 3^e jour de survie, augmente jusqu'à 1 mois avec un pic au 15^e jour (Altman et Altman, 1962 ; Altman et Das, 1964). L'évolution de cette densité névroglie en fonction de l'âge présente des analogies étroites avec la

courbe obtenue chez l'animal normal étudié.

Il est donc évident que, chez les animaux opérés au cours de la période post-natale précoce ainsi délimitée, les deux processus prolifératifs normal et réactionnel *interfèrent*. La prolifération cellulaire réactionnelle, consécutive à l'énucléation, vient se greffer sur la prolifération névroglie qui prélude à la myélinisation des fibres nerveuses. L'identification en cours des cellules névrogliales réactionnelles permet de préciser leur rôle. Il importe de rappeler à ce propos que la gliose de myélinisation est de nature oligodendrocytaire, différente en cela de la prolifération cellulaire consécutive à la dégénérescence des fibres nerveuses. Celle-ci, qui assure la résorption des matériaux désagrégés et leur remplacement, est de nature complexe, associant aux oligodendrocytes les astrocytes, des éléments cellulaires de nature microglie et d'autres phagocytes, tels des leucocytes circulants, des péricytes et éventuellement des cellules leptoméningées (Vaughn et Skoff, 1972) ainsi que des macrophages (Escourolle et Poirier, 1971 ; Kitamura et al., 1972 ; Stenwig, 1972). Vaughn et Skoff (1972) émettent l'hypothèse d'une réponse graduée dans la plupart des dégâts nerveux observés chez le Rat adulte (blessures par lame, dégénérescence wallérienne). Cette réponse serait le fait de différentes sources de phagocytes, à la fois exogènes et endogènes par rapport au système nerveux central et dont la nature et le nombre dépendent de l'étendue de la dégénérescence nerveuse et du degré d'inflammation qui l'accompagne. Cette conception résume de façon satisfaisante les conclusions récentes et variées parues dans de nombreux articles qui touchent à cette question, les auteurs privilégiant plus ou moins telle ou telle catégorie de cellules en fonction du caractère de la lésion, de son éloignement, et du délai de survie par exemple.

Les oligodendrocytes pourraient d'ailleurs jouer dans ce contexte un rôle prépondérant.

DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS

La radio-autographie se révèle une méthode excellente pour déterminer différentes modalités du comportement des cellules névrogliques et de leur cinétique, liée en particulier aux phénomènes de gliose de myélinisation, dans le système nerveux central. L'analyse qualitative et quantitative de ces particularités, non seulement approfondit la connaissance des aspects biologiques de la névrogliose, mais propose également un système de référence pour l'étude des nombreux processus neuropathologiques où la névrogliose se trouve impliquée. C'est ainsi que les glioses de résorption et de substitution prennent toute leur signification, au cours de la période postnatale précoce, dans la mesure où la gliose de myélinisation est bien caractérisée. Dans un autre domaine non moins important qui touche aux phénomènes de démyélinisation, il est certain que la connaissance des conditions spatio-temporelles de la myélinisation aidera à mieux comprendre le déroulement de ces séquences caractéristiques d'affections neurologiques graves comme la sclérose en plaques ou certaines encéphalomyélites par exemple. La citation de C.W.M. Adams selon laquelle "notre ignorance à propos des maladies de démyélinisation accentue le besoin constant pour la recherche de bases biologique et biochimique de la gaine de myéline et sa névrogliose attenante" exprime parfaitement notre point de vue.

Dans cette perspective, la première partie du travail a été consacrée à l'étude des processus de prolifération et de migration névrogliques centrés sur la gliose de myélinisation, chez l'animal normal au cours de la période postnatale. Le prosencéphale a servi de support pour les évaluations quantitatives de la prolifération, tandis que la portion rétrochiasmatique des voies visuelles primaires a été délibérément choisie comme modèle d'étude pour la migration cellulaire. Afin de valider les résultats radio-autographiques obtenus, la détermination des paramètres métaboliques de la molécule de thymidine tritiée, précurseur utilisé, s'imposait comme préalable indispensable. Ainsi des notions essentielles telles que la spécificité de marquage, les durées spécifiques de disponibilité et d'incorporation du précurseur ont été explicitées et discutées. Nos conclusions montrent que la durée de disponibilité du précurseur est brève, limitant en conséquence le temps de marquage des cellules en phase de synthèse ; ce temps de marquage est inférieur à trente minutes, valeur qui correspond à celles trouvées par d'autres auteurs dans des espèces différentes. Quant à la quantité de thymidine incorporée, elle est évaluée à 20 % au plus de la dose injectée. L'analyse des métabolites de la thymidine tritiée consolide la notion de spécificité du marquage. En effet, l'abondance et la présence relativement longue de l'eau tritiée, peu active sur le plan d'une incorporation possible, n'altère pas cette spécificité, ce qui n'aurait pas été le cas avec d'autres métabolites, responsables de l'activité non volatile, comme la thymine et l'acide β -aminoisobutyrique ; ces derniers, plus actifs et par conséquent plus gênants pour la spécificité du marquage, sont heureusement en faible quantité et avec une clearance plasmatique brève. D'autre part, l'utilisation de molécules de thymidine ^{14}C rend peu

plausible, sur le plan quantitatif au moins, l'éventualité d'une réutilisation du radical méthyle, contrairement à la labilité de l'atome d'hydrogène qui rend compte de l'abondance de l'eau tritiée. Tous ces faits concourent à démontrer l'authenticité de la *spécificité du marquage*, élément indispensable à la compréhension des problèmes cinétiques envisagés.

La gliose de myélinisation constituant la toile de fond de cette première partie, il était cohérent d'aborder successivement la gliose sur les plans qualitatif et quantitatif, puis la myélinisation, avant d'établir le cas échéant des rapports de filiation.

Dans cette optique, nous avons procédé à l'identification et à la quantification des cellules névrogliques au niveau de la structure "fibreuse" choisie pour l'analyse des processus de migration, en l'occurrence le *tractus optique*. L'entreprise était particulièrement ardue, en raison surtout des impératifs méthodologiques imposées par la quantification, eux-mêmes majorés par les difficultés liées à l'âge de l'animal. Malgré le nombre considérable de travaux consacrés à la nature des cellules névrogliques, de nombreuses controverses persistaient, et ce ne sont pas les toutes récentes informations publiées par Leblond et collaborateurs, à partir de coupes semi-fines, qui viendront démentir cet état de faits. Conformément aux critères proposés par Mori et Leblond (1969 et 1970), à la suite d'observations effectuées en microscopies optique (imprégnations argentiques et coupes semi-fines) et électronique, nous distinguons trois catégories de cellules névrogliques, identifiées grâce à leurs caractéristiques caryologiques. Ce sont les *oligodendrocytes*, répartis en trois classes -grands (au dessus de $48 \mu\text{m}^2$), moyens (entre 33 et $48 \mu\text{m}^2$) et petits (entre 15 et $33 \mu\text{m}^2$)-, les *astrocytes*,

et une troisième catégorie comprenant notamment la *microglie* interstitielle et périvasculaire, ainsi que des cellules transitoires, indifférenciées ou indéterminées. L'évaluation des surfaces des noyaux, la morphologie nucléaire, et la répartition de la chromatine entraînant une basophilie plus ou moins grande, permettent de différencier les trois classes d'oligodendrocytes et les astrocytes ; le nucléole et les caractères cytoplasmiques peuvent dans certains cas aider à l'identification qui, même dans une structure dépourvue de neurones, peut rester difficile. Quant aux cellules microgliales, qui connaissent actuellement un regain d'intérêt après avoir été vivement contestées par certains auteurs, elles sont relativement peu nombreuses et présentent un noyau allongé et très foncé, particulièrement en position périvasculaire. La quantification des divers types névrogliaux met en évidence dans ce même faisceau, dans la période postnatale examinée, la suprématie des oligodendrocytes et, plus précisément, des petits oligodendrocytes qui représentent près de 70 % de la population névrogliale totale. Nos résultats sont comparables à ceux trouvés chez le Rat, dans d'autres structures "fibreuse" du névraxe, par Matthews et Duncan (1969-1971) dans les faisceaux cuneatus, gracilis et cortico-spinal, et Mori et Leblond dans le corps calleux. En outre, Vaughn (1969) note dans le nerf optique du Rat, également, une proportion d'astrocytes plus forte, atteignant 45 % ; ce pourcentage est en relation vraisemblablement avec le rôle dévolu aux astrocytes dans la septalisation du nerf optique. Enfin, il est intéressant de souligner que, dans la substance grise, le nombre respectif des oligodendrocytes et des astrocytes subit des modifications tendant vers un équilibre entre les deux populations névrogliales principales.

La mise en oeuvre de deux méthodologies fondamentalement différentes, basées sur des délais de survie -entre l'injection du précurseur radio-actif et le sacrifice- constants ou plus ou moins longs, a permis de connaître les modalités cinétiques des divers éléments névrogliques, au cours de la période postnatale précoce, et de préciser en particulier les rapports existant entre la gliose et la myélinisation.

C'est ainsi que, grâce à l'utilisation de délais de survie constants et égaux à 3 h 15 mn, la *prolifération névroglique* a été quantifiée systématiquement dans les diverses structures appartenant aux substances grise et blanche de l'ensemble du prosencéphale, ainsi que dans ses régions génératives, entre 20 h et 47 jours. Plusieurs conclusions se dégagent de l'analyse des résultats obtenus, en fonction des régions étudiées. Tout d'abord, dans les régions génératives -c'est-à-dire dans la zone subépendymaire de la corne antérieure et du corps du ventricule latéral, essentiellement la partie latéro-dorsale- deux faits principaux se détachent : l'intense activité des multiplications cellulaires, d'une part, et la persistance du renouvellement des populations névrogliques marquées à l'âge adulte, d'autre part. Les multiplications cellulaires, presque exclusivement névrogliques -l'existence des migrations neuroniques tardives ne pouvant être totalement écartée- atteignent, 20 heures après la naissance, une valeur de 7500 cellules marquées par unité de surface. Cette forte activité, décelée par Smart en 1961, a été confirmée au cours des deux dernières années soit chez le Rat, soit dans d'autres espèces comme le Chat et le Chien.

Bien que le taux de prolifération diminue sensiblement avec l'âge de l'animal, la prolifération névroglique subsiste, assurant le renouvellement de ces populations à l'âge adulte.

A propos de la cellule subépendymaire, nous acceptons comme plausible l'hypothèse qui la considère comme cellule souche commune, de nature ectodermique, d'où dériveraient les oligodendrocytes et les astrocytes. Quant à la microglie, elle aurait la même origine, mais sa nature ectodermique reste cependant à être confirmée d'autant plus que la tendance actuelle est de la considérer comme d'origine mésenchymateuse. En ce qui concerne les substances grise et blanche, le calcul des taux de prolifération fournit des maximums nettement plus bas que dans les régions génératives, de l'ordre de 30 et 60 cellules par unité de surface respectivement. L'analyse de variance de la densité des cellules névrogliques marquées indique une évolution comparable dans les structures de la substance grise -cortex cérébral et diencephale associé au néostriatum- d'une part, et dans les formations "fibreuses" -corps calleux et tractus optique- d'autre part. Le rhinencéphale dorsal comporte deux composantes évolutives, la première -de 20 heures à 7 jours- analogue aux formations "fibreuses", la deuxième similaire aux structures de la substance grise ; nous pouvons le considérer comme une structure mixte.

Comme dans les régions génératives, nos résultats mettent en relief la décroissance de la prolifération en fonction du temps, et cette similitude ne saurait être minimisée. Sakla (1965) et Gilmore (1971), en particulier, observent des faits comparables dans la moelle épinière chez la Souris et le Rat, tandis que, seuls, Ling et Leblond (1973) constatent au contraire une activité proliférative croissante dans le corps calleux, jusqu'à 5 mois.

En outre, l'existence sur la plupart des courbes du nombre de cellules névrogliques marquées d'un pic à 7 jours postnatal, que traduit parfaitement la courbe cumulée particulièrement influencée par les struc-

tures à fort pourcentage de noyaux marqués (cortex cérébral et diencéphale), mérite une attention spéciale.

Alors que le choix de délais de survie constants a autorisé l'examen de la prolifération, l'emploi de délais de survie variables -échelonnés entre 2 et 17 jours- pour des animaux de même âge (2 jours et demi et 6 jours après la naissance) a habilité l'analyse des *processus de migration* contemporains, puis consécutifs à la prolifération névrogliques survenant dans le tractus optique.

La technique radio-autographique a rendu possible l'analyse des modalités cinétiques et génétiques des éléments névrogliques, d'où se dégagent plusieurs constatations. En premier lieu, il est très vraisemblable que les multiplications cellulaires s'effectuent *in situ* à partir de la population névrogliques existante. Les nouvelles cellules marquées n'émigrent pas d'un segment du tractus optique à l'autre, bien que l'éventualité d'un apport exogène de cellules névrogliques, émanant des régions prolifératives, ne puisse être qualitativement exclue.

Les radio-autographies à la thymidine ^{14}C objectivent, sous la forme d'un grisé homogène, la généralisation des multiplications névrogliques à partir du quinzième jour prénatal, date présumée de l'apparition des cellules névrogliques dans le cerveau antérieur.

Dans le domaine génétique, la recherche du déterminisme de l'évolution du nombre de grains par noyau aboutit à la notion de *cellules quiescentes*, qui bloquent temporairement ou définitivement leurs divisions, mitotiques ou amitotiques selon les cas. Une méthodologie différente basée sur des injections répétées de précurseur radio-actif, entraînant un marquage continu (Kraus-Ruppert, 1973), renforce notablement cette conclusion qui permet d'expliquer l'allongement du cycle génératif, signe

de maturation neuromorphologique.

Sur le plan cytologique, la radio-autographie met en exergue un premier fait fondamental parmi la population des cellules névrogliques marquées : c'est la prépondérance des *oligodendrocytes* qui représentent 85 % environ de l'ensemble des éléments marqués. Parmi eux, les moyens oligodendrocytes ont l'index de marquage le plus élevé en valeur absolue, soit 8,60. Ils correspondent vraisemblablement à des formes de division dont les cellules filles se différencieraient en petits oligodendrocytes qui constituent la fraction la plus forte puisqu'elle atteint 61,10 %

Au point de vue physiologique, l'enregistrement de potentiels évoqués dans le tractus optique du Rat adulte jeune (Sefton et Swinburn, 1964) aboutit à l'expression de paramètres physiologiques, parmi lesquels trois pics évalués respectivement à 13,5 , 5,5 et 3 mètres par seconde caractérisent la vitesse de conduction des influx. Ces pics sont directement proportionnels aux diamètres des fibres, réparties en trois groupes, dans un rapport de 6. La mise en relief de ce rapport constant illustre parfaitement l'authenticité des corrélations anatomo-fonctionnelles propres aux voies visuelles primaires chez le Rat. Des explorations neurophysiologiques de cet ordre sont hautement souhaitables aux divers âges examinés, de façon à pouvoir établir des corrélations fonctionnelles de type évolutif, seule méthode habilitée à bien montrer l'influence dominante de la myélinisation sur l'amélioration progressive des performances. Des investigations couplées de cet ordre, où l'accent est mis sur l'évolution des latences des réponses visuelles électro-corticales et sur les modalités de la conduction et de la transmission synaptique -en relation avec l'allongement des fibres, l'augmentation de leur diamètre, et l'acquisition de leur gaine de myéline-, ont d'ailleurs déjà

été effectuées chez le Lapin et le Chat par Marty en 1962.

Avant d'aborder l'aspect synthétique de ces conclusions, il est intéressant de noter que les multiplications et la densité névrogliques décroissent en fonction du temps de survie, notamment vers la fin de la deuxième semaine postnatale. Cette diminution, qualifiée de "dégliose" ressortit probablement à deux causes, la croissance des fibres nerveuses, d'une part -objectivée par leur allongement, l'augmentation de leur diamètre et de l'épaisseur de leur gaine de myéline- et la disparition d'une partie de la population névrogliques, d'autre part.

Enfin, sous un angle plus général, synthétique, le deuxième fait déterminant qui se dégage des valeurs obtenues pour la densité cellulaire, sur les plans histologique et radio-autographique, est l'existence d'un pic des multiplications cellulaires à 9 jours et demi postnatal, pic qui se retrouve dans d'autres tractus d'espèces différentes. Cette période, centrée sur le neuvième jour, est sans nul doute une étape décisive du développement et de la maturation du système nerveux central. En effet, le taux des multiplications cellulaires, exprimé par le pourcentage des cellules névrogliques marquées, atteint son maximum à ce moment. De surcroît, Burdman en 1972 constate, en étudiant les rapports entre la synthèse de l'A.D.N. et la synthèse des protéines nucléaires dans le cerveau du Rat, que l'incorporation de la thymidine et de la leucine tritiées augmente progressivement de la naissance jusqu'à 8 jours. D'autre part, nous avons vu que des modifications du métabolisme lipidique s'effectuaient chez les Rongeurs au neuvième jour, les phospholipides étant remplacés quantitativement par du cholestérol et les cérébrosides caractéristiques de la myéline tardive.

La convergence chronologique de ces observations de nature variée,

cinétiques, génétiques, biochimiques, métaboliques et anatomo-fonctionnelles, valorise le rôle ontogénétique capital de cette période de la vie postnatale, comprise entre 7 et 12 jours.

La question qui vient alors à l'esprit concerne le pourquoi, la finalité de ces modifications métaboliques et cellulaires. L'étude détaillée de la myélinisation des fibres nerveuses, étape fondamentale de la maturation postnatale, va y apporter une réponse décisive.

Dans cette perspective, la séquence d'apparition de la myéline autour des fibres nerveuses du tractus optique est définie à partir d'informations histochimiques spécifiques. La méthode d'Heidenhain-Woelcke révèle la mise en place de la myéline dès le douzième jour ; la myéline apparaît tout d'abord au niveau chiasmatique, et s'étend simultanément sur toute la longueur du faisceau, atteignant le corps genouillé latéral vers le quinzième jour, conformément aux observations recueillies par Jacobson en 1963 chez le Rat.

Les résultats obtenus apportent la preuve formelle des liens spatio-temporels étroits existant entre la gliose et la myélinisation. Il est désormais absolument certain que les multiplications névrogliques, mises en évidence par radio-autographie, participent à l'élaboration des gaines de myéline. La succession dans le temps des deux événements principaux l'atteste de façon péremptoire et justifie pleinement le terme de *gliose de myélinisation* créé par Robak et Scherer en 1935. L'élément majeur de ce processus est sans conteste l'oligodendrocyte, comme l'admettent la très grande majorité des spécialistes de la névroglie, et comme le prouvent certaines formes mutantes atteintes de leucodystrophie héréditaire (Souris "Jimpy"). Rares en effet, sont les auteurs qui attribuent le rôle essentiel aux astrocytes : Blunt et collaborateurs (1963 à 1972).

Sur ces bases biologiques ainsi définies chez l'animal normal, la deuxième partie du travail a été consacrée à des problèmes de *neuropathologie expérimentale*, étape complémentaire indispensable. Les aspects réactionnels des cellules, essentiellement névrogliques, du *nerf optique*, survenant après occlusion palpébrale et énucléation ont été évalués. Les deux types d'interventions oculaires réalisés à des dates précédant et suivant la mise en place de la myéline, d'une part, et la déhiscence des paupières, d'autre part -soit 5, 10, 15 et 25 jours- ont des répercussions histologiques différentes sur le développement du nerf optique, observé 30 jours après l'opération.

L'*occlusion* palpébrale entraîne une augmentation de la densité des éléments cellulaires et, corrélativement, une diminution du diamètre du nerf optique, exprimé par sa surface de section. Les modifications sont toutefois minimales dans l'ensemble, bien qu'elles soient relativement plus sensibles lorsque l'occlusion est pratiquée plus près de la naissance, à des stades correspondant au déroulement de la gliose de myélinisation, qui représenterait l'équivalent d'une période de susceptibilité physiologique (Hubel et Wiesel, 1970). L'occlusion palpébrale a une influence légère sur le développement du nerf optique, l'empêchant d'acquiescer dans les délais normaux sa structure définitive.

L'*énucléation* a, au contraire, des conséquences histologiques importantes, à la fois sur les plans qualitatif et quantitatif. Elle provoque une *intense prolifération cellulaire*, qui accompagne la *dégénérescence wallérienne* du nerf optique, qui s'exprime par son amincissement progressif, témoignage global de la disparition croissante des axones. Comme pour l'occlusion palpébrale, le retentissement anatomique de l'énucléation est d'autant plus accusé qu'elle se situe à des stades plus précoces du

développement. C'est ainsi qu'à 35 jours la prolifération cellulaire est égale à plus de deux fois celle notée à 55 jours (3,9 au lieu de 1,6). Aux stades précoces, le nerf optique en pleine maturation est plus sensible aux perturbations ou lésions qui l'affectent, tandis qu'aux stades plus tardifs, au fur et à mesure qu'il achève son développement -objectivé par l'acquisition du diamètre définitif de ses fibres et de leur gaine de myéline-, il devient plus résistant.

La troisième conclusion, et non la moindre, qui se dégage de cette étude neuropathologique expérimentale est l'*interférence des processus de prolifération*. Le processus prolifératif normal qui précède la myélinisation -gliose de myélinisation- et les processus prolifératifs réactionnels -glioses de résorption et de substitution- consécutifs à l'intervention oculaire, interfèrent et se surajoutent au cours de la période postnatale précoce. Alors que les oligodendrocytes sont responsables du premier phénomène, de nombreuses cellules parmi lesquelles les astrocytes, les éléments microgliaux, et des phagocytes -leucocytes circulants, péricytes, cellules leptoméningées, macrophages- s'associeraient à eux dans les deux types de gliose réactionnelle.

Il y a là un terrain de choix, certainement très complexe, pour apprécier les rôles susceptibles d'être assumés par les diverses catégories d'éléments névrogliques et autres cellules en fonction des circonstances.

R E S U M E

Ce travail a été consacré à l'étude de la maturation postnatale de la névroglie dans le système nerveux central chez le Rat. L'analyse radio-autographique des cellules névrogliques, en relation avec la myélinisation des fibres nerveuses, et leurs aspects réactionnels ont été successivement analysés.

L'expérimentation a été axée, d'une part, sur la méthode radio-autographique basée sur l'emploi de thymidine tritiée, précurseur authentiquement spécifique de l'A.D.N. et, d'autre part, sur deux techniques d'interventions oculaires, l'occlusion palpébrale et l'énucléation.

D'un point de vue qualitatif, l'identification histologique des éléments névrogliques, dans le *tractus optique* -structure particulièrement propice du fait de l'absence totale de neurones-, a conduit à l'existence de trois catégories cellulaires représentées par les oligodendrocytes, eux-mêmes subdivisés en trois classes (grands, moyens et petits), les astrocytes et d'autres variétés cellulaires, parmi lesquelles la microglie.

Sur le plan quantitatif, la technique radio-autographique a permis d'évaluer les processus de prolifération au niveau du *prosencephale* et de migration dans le tractus optique. En ce qui concerne la *prolifération cellulaire*, plusieurs conclusions intéressant l'activité névroglique en fonction de l'âge de l'animal et le taux des multiplications cellulaires (maximum à 7 jours) ont été mises en évidence dans les trois régions considérées -génératives, substances grise et blanche respectivement-.

D'autre part, un certain nombre de constatations touchant aux domaines cinétique, génétique et cytologique ont été révélées par l'analyse de la *migration cellulaire*. C'est ainsi que certaines modalités spatio-temporelles des multiplications cellulaires -*in situ*, pic à 9 jours et demi, cellules quiescentes- ont été précisées. En outre, la radio-autographie a mis en exergue la prépondérance des *oligodendrocytes* qui représentent 85 % environ de l'ensemble des cellules marquées ou non marquées. Dans le contexte de la maturation postnatale, l'interprétation et la discussion de tous ces résultats ont permis de valoriser le rôle ontogénétique capital de la période de la vie postnatale, comprise entre 7 et 12 jours. Or, cette période décisive du développement est caractérisée également par un phénomène fondamental, la *myélinisation* des fibres nerveuses. L'existence de rapports spatio-temporels étroits liant la gliose et la myélinisation a été ainsi formellement démontrée. Les multiplications cellulaires, qualifiées globalement de gliose, participent à l'élaboration des gaines de myéline. Le terme de *gliose de myélinisation* est donc pleinement justifié.

Sur ces bases biologiques ainsi définies chez l'animal normal et illustrant parfaitement le vocable de neuromorphologie fonctionnelle, la deuxième partie du travail a été consacrée à des problèmes de *neuropathologie expérimentale*. Les aspects réactionnels de l'activité névroglique, survenant après occlusion palpébrale et énucléation, ont été évalués sur toute la longueur du *nerf optique*. L'*occlusion palpébrale* a une influence légère sur le développement du *nerf optique*, l'empêchant d'acquérir dans les délais normaux sa structure définitive. L'*énucléation*, au contraire, provoque une intense prolifération cellulaire, qui accompagne la dégénérescence wallérienne du *nerf optique*, qui s'exprime par son amenuisement

progressif, témoignage global de la disparition croissante des axones. D'autre part, l'étude neuropathologique a révélé une troisième conclusion importante qui a trait à l'*interférence des processus de prolifération*. Le processus prolifératif normal qui précède la myélinisation -gliose de myélinisation- et les processus prolifératifs réactionnels -gliose de résorption et de substitution- consécutifs à l'intervention oculaire,, interfèrent au cours de la période postnatale précoce.

B I B L I O G R A P H I E

Les abréviations des titres des Périodiques sont conformes au Code International proposé par la "World Medical Association" (World Medical Periodicals 1961 et 1968).

- ABERCROMBIE, M. : Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.*, 94, 239-247 (1946).
- ADAMS, C.W.M., DAVISON, A. : The myelin sheaths. In *Neurohistochemistry*. Ed. C.W.M. ADAMS, Elsevier Amsterdam, 753 p. (1965).
- AINGE, G., COOK, J.L., GISBY, P.T. : Rapid staining of myelin in paraffin sections with luxol fast blue MBS. *J. med. Lab. Technol.* 26, 3, 231-232 (1969).
- ALBE-FESSARD, D., STUTINSKY, F., LIBOUBAN, S. : Atlas stéréotaxique du diencéphale du Rat blanc. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, 94 p. (1966).
- ALLEN, E. : The cessation of mitosis in the central nervous system of the albino Rat. *J. comp. Neurol.*, 22, 547-568 (1912).
- ALPERS, B.J., HAYMAKER, W. : The participation of the neuroglia in the formation of myelin in the prenatal infant brain. *Brain* 57, 195-205 (1934).
- ALLT, G. : An ultrastructural analysis of remyelination following segmental demyelination. *Acta neuropath. (Berl.)* 22, 333-344 (1972).
- ALTMAN, J. : Autoradiographic study of degenerative and regenerative proliferation of neuroglia cells with tritiated thymidine. *Exp. Neurol.* 5, 302-318 (1962).
- ALTMAN, J. : Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. II - A longitudinal investigation of the kinetics, migration and transformation of cells incorporating tritiated thymidine in infant Rats, with special reference to postnatal neurogenesis in some brain regions. *J. comp. Neurol.*, 128, 4, 431-473 (1966 a).
- ALTMAN, J. : Proliferation and migration of indifferently precursor cells in the Rat during postnatal gliogenesis. *Exp. Neurol.*, 16, 3, 263-278 (1966 b).
- ALTMAN, J., ALTMAN, E. : Increased utilisation of an amino acid and cellular proliferation demonstrated autoradiographically in the optic pathways of Pigeons. *Exp. Neurol.*, 6, 142-151 (1962).

- ALTMAN, J., CHOROVER, S.L. : Autoradiographic investigation of the distribution and utilization of intraventricularly injected adenine 3H, uracil 3H and thymidine 3H in the brains of Cats. *J. Physiol. (Lond.)*, 169, 770-780 (1963).
- ALTMAN, J., DAS, G.D. : Autoradiographic and histological investigation of changes in the visual system of Rats after unilateral enucleation. *Anat. Rec.*, 148, 535-545 (1964).
- ALTMAN, J., DAS, G.D. : Post-natal origin of microneurons in the Rat brain. *Nature (Lond.)*, 207, 5000, 953-956 (1965 a).
- ALTMAN, J., DAS, G.D. : Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in Rats. *J. comp. Neurol.*, 124, 3, 319-335 (1965 b).
- ALTMAN, J., DAS, G.D. : Autoradiographic and histological studies of post-natal neurogenesis. I - A longitudinal investigation of the kinetics, migration and transformation of cells incorporating tritiated thymidine in neonate Rats, with special reference to postnatal neurogenesis in some brain regions. *J. comp. Neurol.*, 126, 337-390 (1966).
- ALTMAN, J., DAS, G.D. : Postnatal neurogenesis in the Guinea-Pig. *Nature (Lond.)*, 214, 5093, 1098-1101 (1967).
- ALTMAN, J., ANDERSON, W.J., WRIGHT, K.A. : Differential radiosensitivity of stationary and migratory primitive cells in brains of infant Rats. *Exp. Neurol.*, 22, 1, 52-73 (1968).
- ALTMAN, P.L., DITTMER, D.S. : Growth, Reproduction and morphological development. *Federation American Society for Experimental Biology, Washington*, 269-375 (1962).
- ANDERSON, T.W. : An introduction to multivariate statistical analysis. ed. John Wiley & Sons, Inc. New-York, 374 p. (1958).
- ANGEVINE, J.B. jr : Time of neuron origin in the diencephalon of the Mouse. An autoradiographic study. *J. comp. Neurol.*, 139, 2, 129-188 (1970).
- ANGEVINE, J.B., BODIAN, D., COULOMBRE, A.J., EDDS, Mc V., HAMBURGER, V., JACOBSON, M., LYSER, K.M., PRESTIGE, M.C., SIDMAN, R.L., VARON, S., WEISS, P.A. : Embryonic vertebrate central nervous system : revised terminology. *Anat. Rec.* 166, 2, 257-262 (1970).
- ASBURY, A.K. : Schwann cell proliferation in developing Mouse sciatic nerve. A radioautography study. *J. Cell Biol.* 34, 3, 735-743 (1967).
- AUGULIS, V., SEPINWALL, J. : Use of gallocyamin as a myelin stain for brain and spinal cord. *Stain Technol.* 46, 3, 137-143 (1971).
- BALLIN, R.H., THOMAS, P.K. : Electron microscopic observations on demyelination and remyelination in experimental allergic neuritis. Part 2 - Remyelination. *J. neurol. Sci.* 8, 225-237 (1969).
- BANIK, N.L., BLUNT, M.J., DAVISON, A.W. : Changes in the osmiophilia of myelin and lipid content in the Kitten optic nerve. *J. Neurochem.* 15, 471-475 (1968).

- BARNAWELL, E.B., BAKERJEE, M.R., ROGERS, F.M. : A compact apparatus for liquid emulsion autoradiography in total darkness. *Stain Technol.*, U.S.A., 45, 1, 40-41 (1970).
- BARON, M., GALLEGO, A. : The relation of the microglia with the pericytes in the Cat cerebral cortex. *Z. Zellforsch.* 128, 1, 42-57 (1972).
- BASS, N.H., NETSKY, M.G., YOUNG, E. : Microchemical studies of postnatal development in Rat cerebrum. I - Migration and differentiation of cells. 2 - Formation of myelin. *Neurology*, (Minneap.), 19, 3, 258-268 (1969) ; *ibid.* 19, 4, 405-414 (1969).
- BASS, N.H., YOUNG, E. : Effects of hypothyroidism on the differentiation of neurons and glia in developing Rat cerebrum. *J. neurol. Sci.*, 18, 155-173 (1973).
- BASERGA, R. : Autoradiographic methods. in : "Methods Cancer Res. I". New York, London, Academic Press, 45-116 (1967).
- BAUMANN, N., BOURRE, J.M., JACQUE, C., HARPIN, M.L. : Lipid composition of quaking Mouse myelin : comparison with normal Mouse myelin in the adult and during development. *J. Neurochem.* 20, 3, 753-759 (1973).
- BEAUVIEUX : La cécité apparente chez le nouveau-né. La pseudo-atrophie grise du nerf optique. *Arch. Ophtalmologie*, 7, 242-249 (1947).
- BELANGER, L.F., LEBLOND, C.P. : A method for locating radioactive elements in tissues by covering histological sections with a photographic emulsion. *Endocrinology*, 39, 8-13 (1946).
- BEMBRIDGE, B.A. : The problem of myelination in the central nervous system, with special reference to the optic nerve. *Trans. Ophthal. Soc. U.K.* 76, 311-322 (1956).
- BENSTED, J.P.M., DOBBING, J., MORGAN, R.S., REID, R.T.W., WRIGHT, G.P. : Neuroglia development and myelination in the spinal cord of the Chick embryo. *J. embryol. exp. Morph.* 5, 428-437 (1957).
- BERGER, B. : Quelques aspects ultrastructuraux de la substance blanche chez la Souris Quaking. *Brain Res.* 25, 35-53 (1970).
- BERRY, M., ROGERS, A.W., EAYRS, J.T. : Pattern of cell migration during cortical histogenesis. *Nature (Lond.)* 203, 4945, 591-593 (1964).
- BIGNAMI, A., RALSTON, H. : Myelination of fibrillary astroglial processes in long term Wallerian degeneration. The possible relationship to "status marmoratus". *Brain Res.* 11, 3, 710-713 (1968).
- BISCHOFF, A., MOOR, H. : Ultrastructural difference between the myelin sheaths of peripheral nerve fibres and central nervous system white matter. *Z. Zellforsch.* 81, 303-310 (1967).
- BISCONTE, J.C. : Histogenèse du système nerveux central chez le Rat. Etudes chronoarchitectoniques par radioautographie quantitative. *Thèse de Doctorat Sci. Nat, Montpellier*, 315 p., (1973).
- BISCONTE, J.C., FULCRAND, J., MARTY, R. : Analyse radioautographique dans le système nerveux central par photométrie et cartographie combinées. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* 162, 2178-2183 (1968).
- BLAKEMORE, W.F., JOLLY, R.D. : The subependymal plate and associated ependyma in the Dog. An ultrastructural study. *J. Neurocytol.* 1, 69-84 (1972).
- BLAKEMORE, W.F. : Demyelination and remyelination of the superior cerebellar peduncle in the Mouse induced by cuprizone. *J. neurol. Sci.* 20, 63-72 ; *ibid.* 73-83 (1973).

- BLENK, H. : Quantitative Untersuchungen an Gliazellen im Corpus callosum wachsender Katzen nach Perfusions und Immersionsfixierung. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* 128, 3, 222-234 (1969).
- BLINKINSOPP, W.K. : Duration of availability of tritiated thymidine following intraperitoneal injection. *J. Cell Sci.* 3, 89-93 (1968).
- BLUNT, M.J., WENDELL-SMITH, C.P. : Glial - Glycerophosphate dehydrogenase and central myelination. *Nature (Lond.)* 216, 5115, 605-606 (1967 a).
- BLUNT, M.J., WENDELL-SMITH, C.P., BALDWIN, F. : The macroglia of the optic nerve. *J. Anat. (Lond.)* 97, 485 (1963).
- BLUNT, M.J., WENDELL-SMITH, C.P., BALDWIN, F. : Glia nerve fibre relationships in mammalian optic nerve. *J. Anat. (Lond.)* 99, 1, 1-11 (1965).
- BLUNT, M.J., WENDELL-SMITH, C.P., BALDWIN, F. : An oxidative enzyme study during central myelination. *J. Anat. (Lond.)* 101, 191 (1967 c).
- BLUNT, M.J., PAISLEY, P.B., WENDELL-SMITH, C.P. : Oxidative enzyme histochemistry of immature neuroglia during myelination. *J. Anat. (Lond.)* 110, 3, 421-433 (1971).
- BLUNT, M.J., BALDWIN, F., WENDELL-SMITH, C.P. : Gliogenesis and myelination in Kitten optic nerve. *Z. Zellforsch.* 124, 3, 293-310 (1972).
- BLUNT, M.J., WENDELL-SMITH, C.P., PAISLEY, P.B., BALDWIN, F. : Oxidative enzyme activity in macroglia and axons of Cat optic nerve. *J. Anat. (Lond.)*, 101, 1, 13-26 (1967 b).
- BONAVENTURE, M., GOSWAMY, S., KARLI, P. : Electroretinogram and visual evoked response in Rabbits reared in total darkness or continuous illumination. *Doc. Ophthalm.* 30, 339-347 (1971).
- BOGOROCH, R. : Liquid emulsion autoradiography. in : "Autoradiography for Biologists". ed. by P.B. GAHAN, Academic Press, 66-94 (1972).
- BOND, V.P., FEINENDEGEN, L.E. : Intranuclear ³H thymidine : dosimetric radiobiological and radiation protection aspects. *Health Phys.* 12, 1007-1020 (1966).
- BONDY, S.C. : Axonal migration of various ribonucleic acid species along the optic tract of the Chick. *J. Neurochem.* 19, 7, 1769-1776 (1972).
- BRICHOVA, H. : Contribution to the question of the existence and function of microglia cells in the Rat central nervous system. *Folia morphol. (Tchechoslov.)* 20, 1, 85-87 (1972).
- BRIZZEE, K.P., VOGT, J., KHARETCHKO, X. : Postnatal changes in glia neuron index with a comparison of methods of cell enumeration in the white Rat. *Progres Brain Res.* 4, Growth and Maturation, 136-146 (1963).
- BRIZZEE, K.P., SHERWOOD, N., TIMIRAS, P.S. : A comparison of cell population at various depth levels in cerebral cortex of young adult and aged Long-Evans Rats. *J. Geront., USA*, 23, 3, 289-297 (1968).
- BRUESCH, S.R., AREY, L.B. : The number of myelinated and unmyelinated fibers in the optic nerve of Vertebrates. *J. comp. Neurol.*, 77, 631-665, (1942).

- BRUMBERG, V.A., PEVZNER, L.Z. : Les acides nucléiques dans le système neurone-névroglie dans différents états fonctionnels du système nerveux. *Citologia SSSR*, 13, 2, 129-147 (1971).
- BRYANS, W.A. : Mitotic activity in the brain of the adult Rat. *Anat. Rec.*, 133, 65-73 (1959).
- BUNGE, R.P. : Glial cells and the central myelin sheath. *Physiol. Rev.* 48, 1, 197-251 (1968).
- BURDMAN, J.A. : The relationship between D.N.A. synthesis and the synthesis of nuclear proteins in Rat brain during development. *J. Neurochem* 19, 6, 1459-1469 (1972).
- BURKE, D. : A modification for the combined staining of cells and fibers in the nervous system. *Amer. J. med. Technol.* 34, 11, 667-670 (1968).
- CALEY, D.W. : Ultrastructural differences between central and peripheral myelin sheath formation in the Rat. *Anat. Rec.* 157, 223 (1967).
- CALEY, D.W., MAXWELL, D.S. : An electron microscopic study of the neuroglia during postnatal development of the Rat cerebrum. *J. comp. Neur.* 133, 1, 45-70 (1968).
- CALLEBAUT, H., DEMALSY, P. : Improved resolution of fine caryological details by staining and examination before and after autoradiography. *Stain Technol.* 42, 5, 227-229 (1967).
- CAMMERMEYER, J. : Morphologic distinctions between oligodendrocytes and microglia cells in the Rabbit cerebral cortex. *Amer. J. Anat.* 118, 1, 227-247 (1966 a).
- CAMMERMEYER, J. : The association between microglia and myelin in silver impregnated sections. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* 125, 367-377 (1966 b).
- CAMMERMEYER, J. : The life history of the microglial cell : a light microscopic study. *Neurosci. Res.* 3, 43-129 (1970).
- CASOLA, L., DAVIS, G.A., DAVIS, R.E. : Evidence for R.N.A. transport in Rat optic nerve. *J. Neurochem* 16, 6, 1037-1041 (1969).
- CAVINESS, V.S. jr., BARKLEY, D.S. : Section thickness and grain count variation in tritium autoradiography. *Stain Technol.* 46, 3, 131-135 (1971).
- CHAUDHURI, J.P., HAAS, R.J., SCHREML, W., KNORR-GARTNER, H., FLIEDNER, T.M. : Cytogenetic and teratologic studies on Rats continuously infused with various doses of tritiated thymidine during pregnancy. *Teratology* 4, 4, 395-403 (1971).
- CHEVREAU, J., MARTY, R. : Variations de la densité névroglie au cours du processus de myélinisation. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 252, 1670-1672 (1961).
- CHIBON, P. : Effet des fortes doses de thymidine tritiée sur le développement et les chromosomes du triton *Pleurodeles waltlii* Michah. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 266, 8, 798-809 (1968).
- CHOW, K.L., STEWART, D.L. : Reversal of structural and functional effects of long term visual deprivation in Cats. *Exp. Neurol.* 34, 3, 409-433 (1972).

- CLAES, F.H. : L'emploi d'émulsions photographiques dans l'autoradiographie. *Acta histochem., Suppl.*, 8, 23-38 (1968).
- CLARKE, R. : A comparative analysis of methods of estimating the size of cell population from microtome sections. *J. roy. micr. Soc.* 88, 189-203 (1968).
- CLEAVER, J.E. : Thymidine metabolism and cell kinetics. *Frontiers of Biol. Netherl.* 6, Edition North Holland, Amsterdam, 259 p. (1967).
- CLEAVER, J.E., THOMAS, G.H., BURKI, H.J. : Biological damage from intranuclear tritium : D.N.A. strand breaks and their repair. *Science* 177, 4053, 996-997 (1972).
- COLEMAN, E.J. : A simplified autoradiographic dipping procedure. Slides handled in groups of five. *Stain Technol.* 40, 4, 240-241 (1965).
- COLLEWIJN, H., SCHADE, J.P. : Changes in the size of astrocytes and oligodendrocytes during anoxia, hypothermia and spreading depression. *Progres Brain Res., Biology of Neuroglia*, 15, 184-195 (1965).
- CRAVIOTO, H. : The role of Schwann cells in the development of human peripheral nerves. An electron microscopic study. *J. Ultrastruct. Res.* 12, 634-651 (1965).
- CREVEL, H. Van, VERHAART, W.J.C. : The rate of secondary degeneration in the central nervous system. I - The pyramidal tract of the Cat. II - The optic tract of the Cat. *J. Anat. (Lond.)* 97, 429-449 ; 451-464 (1963).
- CRONKITE, E.P., BOND, V.P., FLIEDNER, T.M., RUBINI, J.R. : The use of tritiated thymidine in the study of D.N.A. synthesis and cell turnover in hemopoietic tissues. *Lab. Invest.* 8, 263-277 (1959).
- CRONKITE, E.P., FLIEDNER, T.M., KILLMAN, S.A., RUBINI, J.R. : Tritium labelled thymidine 3H-TdR : its somatic toxicity and use in the study of growth rates and potentials in normal and malignant tissue of Man and animals. In : "Tritium in the Physical and Biological Sciences", vol. 2, Intern. Atomic Energy Agency Vienna, 189-206 (1962).
- CRONKITE, E.P., FLIEDNER, T.M., BOND, V.P., RUBINI, J.R., BRECHER, G., QUASTLER, H. : Dynamics of hemopoietic proliferation in Man and Mice studied by H3 thymidine incorporation into D.N.A. *Ann. New-York Acad. Sci.*, 77, 803-820 (1959).
- CUENOD, M., SCHONBACH, J. : Synaptic proteins and axonal flow in the Pigeon visual pathway. *J. Neurochem.* 18, 6, 809-816 (1971).
- DALAL, K.B., EINSTEIN, E.R. : Biochemical maturation of the central nervous system. I - Lipid changes. *Brain Res.* 16, 2, 441-451 (1969).
- DALTON, M.M., HOMMES, O.R., LEBLOND, C.P. : Correlation of glial proliferation with age in the Mouse brain. *J. comp. Neurol.* 134, 4, 397-400 (1968).
- DAVISON, A.N., PETERS, A. : Myelination. Charles Thomas Springfield, 238 p. (1970).
- DAVISON, A.N., DUCKETT, S., OXBERRY, J.M. : Correlative morphological and biochemical studies of the human fetal sciatic nerve. *Brain Res.* 57, 2, 327-342 (1973).

- DAVISON, A.N., CUZNER, M.L., BANIK, N.L., OXBERRY, J. : Myelinogenesis in the Rat brain. *Nature (Lond.)* 212, 5068, 1373-1374 (1966).
- DEKABAN, A. : Oligodendroglia and axis cylindres in Rabbits before, during and after myelination. *Anat. Rec.* 126, 111-122 (1956).
- DEKABAN, A., PATTON, V.M., CAIN, D.F. : Structural and biochemical maturation of the cerebral pallium in Rabbit fetuses : Morphogenesis and lipids. *J. Neurochem.* 18, 12, 2451-2459 (1971).
- DE LONG, G.R., SIDMAN, R.L. : Effects of eye removal at birth on histogenesis of the Mouse superior colliculus. An autoradiographic analysis with thymidine 3H. *J. comp. Neurol.*, 118, 205-224 (1962).
- DEL RIO HORTEGA, P. : Tercera aportacion al conocimiento morfologico e interpretacion funcional de la oligodendroglia. *Memb. Real. Soc. Esp. Hist. Nat.* 14, 7-122 (1928).
- DEL RIO HORTEGA, P. : Microglia. In : "Cytology and cellular pathology of the nervous system". Ed. W. Penfield, 481-534 (1932).
- DEMEMES, D., MARTY, R. : La plaque subependymaire chez le Chat : topographie et histologie, aptitudes reactionnelles. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 272, 2201-2204 (1971).
- DE ROBERTIS, E., GERSCHENFELD, H.M., WALD, F. : Cellular mechanism of myelination in the central nervous system. *J. biophys. biochem. Cytol.* 4, 651-658 (1958).
- DE ROBERTIS, E., GERSCHENFELD, H.M., WALD, F. : Ultrastructure and function of glia cells. In D.B. TOWER et J.P. SCHADE. "Structure and function of the cerebral cortex". Amsterdam, Elsevier, 69-78 (1960).
- DEUCHAR, E.M. : Staining sections before autoradiographic exposure : excessive background graining caused by celestin blue. *Stain Technol.* 37, 5, 324 (1962).
- DIAB, I.M., ROTH, L.J. : Autoradiographic differentiation of free, bound, pure, and impure thymidine 3H. *Stain Technol.* 45, 6, 285-291 (1970).
- DIDERHOLM, H., FICHTELIUS, K.E., LINDER, O. : Availability time of 3H label after administration of 3H thymidine in vivo. *Exp. Cell Res.* 27, 431-435 (1962).
- DINER, O. : Les cellules de Schwann en mitoses et leurs rapports avec les axones au cours du developpement du nerf sciatique chez le Rat. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 261, 7, 1731-1734 (1965).
- DMITRIEVA, N.I. : -en russe- Myelogenese des voies reflexes visuelles au cours de l'ontogenese postnatale des rats blancs "Wistar". In : *Razvitie golovnogo mizga zhivotnykh*, Leningrad Izdab Nauka 145-151 (1969).
- DOHLMAN, G.F., MANNSBACH, A.B., HAMMARSTROM, L., APPELGREN, L.E. : Electron microscopic autoradiography. A method for producing uniform monolayers of silver halide crystals using centrifuge sedimentation. *J. Ultrastruc. Res.*, 10, 293-303 (1964).
- DONAT, J.R., WISNIEWSKI, H.M. : The spatio-temporal pattern of Wallerian degeneration in mammalian peripheral nerves. *Brain Res.* 53, 1, 41-53 (1973).

- DORMER, P., BRINKMANN, W. : Quantitative ¹⁴C - Autoradiographie einzelner Zellen. *Histochem*, 29, 248-264 (1972).
- DROZ, B., BARONDES, S.H. : Nerves endings : rapid appearance of labeled protein shown by electron microscope radioautography. *Science* 165 3898, 1131-1133 (1969).
- EAGER, R.P. : Selective staining of degenerating axons in the central nervous system by a simplified silver method : spinal cord projections to external cuneate and inferior olivary nuclei in the Cat. *Brain Res.* 22, 1, 137-141 (1970).
- ELLIOTT, K.A.C., PAGE, I.H., QUASTEL, J.H. : Neurochemistry. Charles Thomas Springfield, ed., 1035 p. (1962).
- ENGSTROM, A., FINEAN, J.B. : Biological ultrastructure. Academic Press, New-York (1958).
- ESCOUROLLE, R., POIRIER, J. : Manuel élémentaire de neuropathologie. Masson & Cie 204 p., (1971).
- EVANS, E.A. : Tritium and its compounds. Butterworths 441 p. (1966).
- FARKAS-BARGETON, E. : Abnormal glial maturation in the white matter in Jimmy Mice. *Acta neuropath.* (Berl.) 21, 272-281 (1972).
- FARQUHAR, M.G., HARTMANN, J.F. : Neuroglial structure and relationship as revealed by electron microscopy. *J. Neuropath.* 16, 18-39 (1957).
- FEINENDEGEN, L.E. : Tritium-Labeled molecules in Biology and Medicine. Academic Press, New-York, 430 p. (1967).
- FEINENDEGEN, L.E., BOND, V.P., HUGHES, W.L. : Physiological thymidine reutilization in Rat bone marrow. *Proc. Soc. exp. Biol.* (N.Y.) 111, 177 (1962).
- FERNANDO, D.A. : A third glial cell seen in retrograde degeneration of the hypoglossal nerve. *Brain Res.* 27, 365-368 (1971).
- FERNANDEZ-MORAN, H. : The submicroscopic structure of nerve fibres. *Progr. Biophys.* 4, 112-147 (1954).
- FERNANDO, D.A., BLUNT, M.J. : A histochemical study of adenosine triphosphatase in neuroglia. *J. Anat.* (Lond.) 107, 2, 209-214 (1970).
- FERNSTROM, R.C. : A durable Nissl stain for frozen and paraffin sections. *Stain Technol.*, 33, 175-176 (1958).
- FICQ, A. : Contribution à l'étude du métabolisme cellulaire au moyen de la méthode autoradiographique. *Inst. des Sciences Nucléaires*, 9, 121 p. (1961).
- FIFKOVÁ, E. : The effect of unilateral deprivation on visual centers in Rats. *J. comp. Neurol.* 140, 4, 431-438 (1970).
- FIFKOVÁ, E., HASSLER, R. : Quantitative morphological changes in visual centers in Rats after unilateral deprivation. *J. comp. Neurol.* 135, 2, 167-178 (1969).
- FINK, R.P., HEIMER, L. : Two methods for selective silver impregnation of degenerating axons and their synaptic endings in the central nervous system. *Brain Res.* 4, 369-374 (1967).

- FISCHER, H.A., WERNER, G. : Autoradiography. Walter de Gruyter, Berlin, New-York, 199 p. (1971).
- FITZGERALD, P.J., CAROL, B. : Quantitative autoradiography : Statistical study of the variance error and sensitivity of the labelling index (thymidine 3H and D.N.A. synthesis). *Current Topics in Pathology*. Springer Verlag, 62-96 (1970).
- FLECHSIG, P. : Meine myelogenetische Hirnlehre. Berlin Springer, 122 p. (1927).
- FLEISCHHAUER, K. : Über die Entstehung der Kernreihen in der weissen Substanz des Zentralnervensystems. *Z. Zellforsch.* 80, 44-51 (1967).
- FLEISCHHAUER, K. : Über die Reihenbildung der Gliazellen in der weissen Substanz. *Anat. Anz.* 121, 433-435, (1968 a).
- FLEISCHHAUER, K. : Postnatale Entwicklung der Neuroglia. *Acta neuropath. (Berl.) Suppl.* IV, 20-32 (1968 b).
- FLEISCHHAUER, K., HILLEBRAND, H. : Über die Vermehrung der Gliazellen bei der Markscheidenbildung. *Z. Zellforsch.* 69, 61-68 (1966).
- FLIEDNER, T.M., HAAS, R.J., STEHLE, H., ADAMS, A. : Complete labelling of all cell nuclei in newborn Rats with 3H thymidine. A tool for the evaluation of rapidly and slowly proliferating cells system. *Lab. Invest.* 18, 3, 249-259 (1968).
- FOLCH-PI, J. : Composition of the brain in relation to maturation. In : "Biochemistry of the developing nervous system" ed. H. Waelsch, Academic Press, New-York, 121-136 (1955).
- FORRESTER, J., PETERS, A. : Nerve fibres in the optic nerve of Rat. *Nature (Lond.)* 214, 245-247 (1967).
- FOX, M.W. : Neuronal development and ontogeny of evoked potentials in auditory and visual cortex of the Dog. *Electroencephal. clin. Neurophysiol.* 24, 213-226 (1968).
- FOX, C.A., RAFOLS, J.A. : Observations on the oligodendroglia in the primate striatum. Are they Ramon y Cajal "dwarf" or "neurogliaform" neurons ? *J. Hirnforsch., Dt.*, 13, 4-5, 331-340 (1971-1972).
- FRIEDE, R.L. : A histochemical study of D.P.N. diaphorase in human white matter ; with some notes on myelination. *J. Neurochem.* 8, 17-30 (1961).
- FRIEDE, R.L. : Topographic Brain Chemistry. Academic Press, New-York, 543 p. (1966).
- FRIEDE, R.L. : Glia and myelination. *VI^e Cong. Intern. Neuropath.*, Masson & Cie, Paris, 293-305 (1970).
- FRIEDE, R.L. : Control of myelin formation by axon caliber (with model of the control mechanism). *J. comp. Neurol.* 144, 2, 233-252 (1972).
- FRIEDE, R.L., KUO HAO HU : Increase in cholesterol along human optic nerve. *J. Neurochem.* 14, 3, 307-315 (1967 a).
- FRIEDE, R.L., KUO HAO HU : Proximo-distal differences in myelin development in human optic fibers. *Z. Zellforsch.* 79, 259-264 (1967 b).
- FRIEDE, R.L., SAMORAJSKI, T. : Myelin formation in the sciatic nerve of Rat. A quantitative electron microscopic, histochemical and radioautographic study. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 27, 4, 546-571 (1968).

- FRIEDE, R.H., MIYAGISHI, T., HU, K.H. : Axon calibre, neurofilaments, microtubules sheath thickness and cholesterol in Cat optic nerve fibers. *J. Anat. (Lond.)* 108, 365-373 (1971).
- FUJITA, H., FUJITA, S. : Electron microscopie studies on the histogenesis of the central nervous system of the domestic fowl. I - on the nerve cell differentiation. II - neuroglia. *Acta anat. Nippon*, 38, 85-108 (1963).
- FUJITA, H., FUJITA, S. : Electron microscopic studies on the differentiation of ependymal cell and neuroglia. *J. Electromicrosc. Jap.* 13, 1, 36 (1964 b).
- FUJITA, S. : The matrix cell and histogenesis of the central nervous system. *Laval med.*, 36, 2, 125-130 (1965 a).
- FUJITA, S. : An autoradiographic study on the origin and fate of the subpial glioblast in the embryonic Chick spinal cord. *J. comp. Neurol.* 124, 51-60 (1965 b).
- FUJITA, S. : Applications of light and electron microscopic autoradiography to the study of cytogenesis of the forebrain. In : "Evolution of the Forebrain" R. Hassler and H. Stephan, eds Plenum Press, New-York, 180-196 (1966).
- FUJITA, S., FUJITA, H. : Electron microscopic studies on the differentiation of the ependymal cells and the glioblasts in the spinal cord of domestic fowl. *Z. Zellforsch.* 64, 262-272 (1964 a).
- FULCRAND, J., MARTY, R. : Prolifération névroglie postnatale chez le Rat : radio-autographie quantitative. *VI^e Cong. Intern. Neuropath.* Masson & Cie, Paris, 445-446 (1970 b).
- FULCRAND, J., MARTY, R. : Migrations névroglie dans le tractus optique chez le Rat : radio-autographie quantitative au cours du développement postnatal. *Exp. Brain Res.*, 14, 38-47 (1971).
- FULCRAND, J., MARTY, R. : Migration postnatale du tractus optique chez le Rat : identification et quantification de la névroglie sur radio-autographies. *Exp. Brain Res.*, 16, 466-475 (1973).
- FULCRAND, J., BISCONTE, J., MARTY, R. : Clearance plasmatique et élimination urinaire de la thymidine marquée et de ses métabolites. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* 162, 8-9, 1584-1588 (1968).
- FULCRAND, J., BISCONTE, J., MARTY, R. : Radioautographie quantitative de la prolifération névroglie au cours du développement postnatal chez le Rat. *Z. mikr.-anat. Forsch.* 82, 349-361 (1970 a).
- FULCRAND, J., VALAT, J., MARTY, R. : Réactions cellulaires au cours de l'occlusion palpébrale et de la dégénérescence expérimentale du nerf optique dans la période postnatale. Interférence des processus de prolifération. *Acta neurol. Belg.*, sous presse (1973).
- GAHAN, P.B. : Autoradiography for biologists. Academic Press, London, 124 p. (1972).
- GANZ, L., HIRSCH, H., TIEMAN, S. : The nature of perceptual deficits in visually deprived Cats. *Brain Res.* 44, 2, 547-568 (1972).

- GAZE, R.M., WATSON, W.E. : Cell division and migration in the brain after optic nerve lesions. In : *Growth of the Nervous Systems*, Wolstenholme Gew. and O'Connor M. eds, Little Brown, Boston, 53-67 (1968).
- GEREN, B. : The formation from the Schwann cell surface of myelin in the peripheral nerves of Chick embryos. *Exp. Cell Res.* 7, 558-562 (1954).
- GIBOR, A., GRANICK, S. : Plastids and mitochondria : inheritable systems. *Science* 145, 890-897 (1964).
- GILMORE, S.A. : Neuroglial population in the spinal white matter of neonatal and early postnatal Rats : an autoradiographic study of numbers of neuroglia and changes in their proliferative activity. *Anat. Rec.* 171, 2, 283-291 (1971).
- GIOLLI, R.A., GUTHRIE, M.D. : The primary optic projections in the Rabbit. An experimental degeneration study. *J. comp. Neurol.* 136, 99-126 (1969).
- GLEES, P. : Neuroglia : morphology and function. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 111 p. (1955).
- GLEES, P., MELLER, K. : Morphology of Neuroglia. In : Bourne : *Structure and function of Nervous tissue*, Academic Press, 301-323 (1968).
- GOLDBERG, S. : Silver staining, featuring rapid reduction, for whole mounts of retina and optic pathways in Chick embryos. *Stain Technol.*, 47, 2, 65-69 (1972).
- GRAVECHA, N.D. : Autoradiographie de la synthèse des acides nucléiques et des protéines dans le système nerveux (en russe). Publ. sous la direction de L.N. Zhinkin, Leningrad, Izdat Nauka, 230 p. (1968).
- GREEN, M.R., BAHR, G.F. : Incorporation of ³H thymidine into mitochondria, localization of radioautographic label to individual mitochondria (judged by electron microcopy). *J. Histochem. Cytochem.* 18, 5, 354-360 (1970).
- GRIFFIN, R., ILLIS, L.S., MITCHELL, J. : Identification of neuroglia by light and electronmicroscopy. *Acta neuropath (Berl.)* 22, 7-12 (1972).
- GROTH, H., WELED, B., BATKIN, S. : A comparison of monocular visually evoked potentials in human neonates and adults. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 28, 5, 478-489 (1970).
- GUDE, W.D. : Autoradiographic techniques. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey (1968).
- GUILLERY, R.W. : Survival of large cells in the dorsal lateral geniculate laminae after interruption of retinogeniculate afferents. *Brain Res.* 28, 3, 541-544 (1971).
- GUILLERY, R.W. : Binocular competition in the control of geniculate cell growth. *J. comp. Neurol.* 144, 117-129 (1972).
- GUILLERY, R.W. : The effect of lid structure upon the growth of cells in the dorsal lateral geniculate nucleus of kittens. *J. comp. Neurol.* 148, 4, 417-422 (1973).

- GUILLERY, R.W., STELZNER, D.J. : The differential effects of unilateral lid closure upon the monocular and binocular segments of the dorsal lateral geniculate nucleus in the Cat. *J. comp. Neurol.* 139, 413-422 (1970).
- GYLLENSTEN, L., MALMFORS, T., NORRLIN-GRETTVE, M.L. : Development and functional alteration in the fibre composition of the optic nerve in visually deprived Mice. *J. comp. Neurol.* 128, 413-418 (1966).
- HAAS, R.J., WERNER, J., FLIEDNER, T.M. : Cytokinetics of neonatal brain cell development in Rats as studied by the complete 3H thymidine labelling method. *J. Anat. (Lond.)* 107, 3, 421-437 (1970).
- HAIN, R.F., RIEKE, O.W., EVERETT, N.B. : Evidence of mitosis in neuroglia as revealed by proliferation employing tritiated thymidine. *J. Neuropath exp. Neurol.* 19, 147-148 (1960).
- HAISSIG, B.E. : A two-level autoradiographic emulsion tank for easy filling and dipping in total darkness. *Stain Technol.* 44, 5, 253-255 (1969).
- HANAWAY, J., McCONNELL, J.A., NETSKY, M.G. : Histogenesis of the substantia nigra, ventral tegumental area of Tsai and interpeduncular nucleus : an autoradiographic study of the mesencephalon in the Rat. *J. comp. Neurol.* 142, 1, 59-74 (1971).
- HAYHOW, W.R., WEBB, C., JERVIE, A. : The accessory optic fiber system in the Rat. *J. comp. Neurol.* 115, 2, 187-216 (1960).
- HEIDER, M. : Über die postnatale Entwicklung der Neuroglia in der Pyramide des Menschen. *Z. Zellforsch.* 79, 459-468 (1967).
- HEIMER, L., EBNER, F.F., NAUTA, W.J.H. : A note on the termination of commissural fibers in the neocortex. *Brain Res.* 5, 2, 171-177 (1967).
- HENDRICSSON, A.E., COWAN, W. : Changes in the rate of axoplasmic transport during postnatal development of the Rabbits optic nerve and tract. *Exp. Neurol.* 30, 403-422 (1971).
- HENDRICSSON, A.E., MOE, L., NOBLE, B. : Staining for autoradiography of the central nervous system. *Stain Technol.* 47, 6, 283-290 (1972).
- HENN, F.A., HAMBERGER, A. : Glial cell function. Uptake of transmitter substances. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* 68, 2686-2690 (1971).
- HICKS, S.P., AMATO, C.J. d' : Cell migration to the isocortex in the Rat. *Anat. Rec.* 160, 3, 619-633 (1968).
- HILD, W. : Myelin formation around central neurons in vitro. *Tex. Rep. Biol. Med.* 21, 207-213 (1963).
- HILD, W., TASAKI, I. : Morphological and physiological properties of neurons and glial cells in tissue culture. *J. Neurophysiol.* 25, 277-304, (1962).
- HILLEBRAND, H. : Quantitative Untersuchungen über postnatale Veränderungen der Glia im Corpus callosum der Katze. *Z. Zellforsch.* 73, 2, 303-312 (1966).
- HILLEMANN, H.H. : Improved model of autoradiographic drying box. *Trans. Amer. Microsc. Soc.* 86, 4, 509-511 (1967).
- HINDS, J.W. : Autoradiographic study of histogenesis in the Mouse olfactory bulb. I : Time of origin of neurons and neuroglia. II : Cell proliferation and migration. *J. comp. Neurol.* 134, 287-304 ; 305-322 (1968 a et b).

- HIRANO, A. : A confirmation of the oligodendroglial origin of myelin in the adult Rat. *J. Cell Biol.* 38, 3, 637-640 (1968).
- HIRANO, A., ZIMMERMAN, H.M. : Some new pathological findings in the central myelinated axons. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 30, 3, 325-336 (1971).
- HOMMES, O., LEBLOND, C.P. : Mitotic division of neuroglia in the normal adult Rat. *J. comp. Neurol.* 129, 3, 269-278 (1967).
- HOPEWELL, J.W. : A quantitative study of the mitotic activity in the subependymal plate of adult Rats. *Cell Tiss. Kinet.* 4, 3, 273-278 (1971).
- HORROCKS, L.A. : Composition of Mouse brain myelin during development. *J. Neurochem.* 15, 483-488 (1968).
- HUBEL, D.H., WIESEL, T.N. : The period of susceptibility to the physiological effects of unilateral eye closure in Kittens. *J. Physiol. (Lond.)* 206, 419-436 (1970).
- HUBEL, D.H., WIESEL, T.N. : Aberrant visual projections in the siamese Cat. *J. Physiol. (Lond.)* 218, 1, 33-62 (1971).
- HYDEN, H. : Biochemical and functional interplay between neuron glia. In : "Recent Advances in biological Psychiatry, Plenum Press New York, 6, 31-54 (1964).
- IIDA, T., SCHIEBLER, T.H. : Über die chemodifferenzierung der Schbahn der Ratte. Morphologische histochemische und experimentelle Untersuchungen. *Histochem.* 12, 3, 265-284 (1968).
- INOUE, Y. : The glioarchitectonics of the Chicken brain. I : The glial cells in the optic tract. II : Microglia. *Folia anat. Jap.* 47, 4, 229-265 ; 48, 53-82 (1970-1971).
- JACOBSON, S. : Sequence of myelinisation in the brain of the albino Rat. I : Cerebral cortex thalamus and related structures. *J. comp. Neurol.* 121, 1, 5-29 (1963).
- JARLSTEDT, J., KARLSSON, J.O. : Evidence for axonal transport of R.N.A. in mammalian neurons. *Exp. Brain Res.* 16, 5, 501-506 (1973).
- JONES, D. : The reaction of formaldehyde with unsaturated fatty acids during histological fixation. *Histochem. (GB)* 1, 5, 459-491 (1969).
- JONES, O.W. : Cytogenesis of oligodendroglia and astrocytes. *Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.)* 28, 1030-1045 (1932).
- KANAGASUNTERAM, R., KRISHNAMURTI, A., AHMED, M.M., WONG, W.C., CHAN, H.L. : Optic terminals in the lateral geniculate nucleus of the Monkey, (*Macaca fascicularis*). *Acta anat. (Basel)*, 80, 1, 58-67 (1971).
- KARLSSON, J.O., SJÖSTRAND, J. : Transport of labelled proteins in the optic nerve and tract of the Rabbit. *Brain Res.* 11, 2, 431-439 (1968).
- KARLSSON, J.O., SJÖSTRAND, J. : Synthesis, migration and turnover of protein in retinal ganglion cells. *J. Neurochem.* 18, 749-767 (1971 a).
- KARLSSON, J.O., SJÖSTRAND, J. : Transport of microtubular protein in axons of retinal ganglion cells. *J. Neurochem.* 18, 975-982 (1971 b).
- KELLY, P., COWAN, M.W. : Studies on the development of the Chick optic tectum. III - Effects of early eye removal. *Brain Res.* 42, 2, 263-288 (1972).

- KERSHMAN, J. : The medulloblast and the medulloblastoma. *Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.)* 40, 937-967 (1938).
- KIM, S., TANAKA, Y. : Myelinated neuronal soma in organized culture of Mouse central nervous tissue. *Exp. Neurol.* 30, 1, 190-193 (1970).
- KING, J.S. : A light and electron microscopic study of perineuronal glial cells and processus in the Rabbit neocortex. *Anat. Rec.* 161, 1, 111-123 (1968).
- KITAMURA, T., HATTORI, H., FUJITA, S. : Autoradiographic studies on histogenesis of brain macrophages in the Mouse. *J. neuropath. exp. Neurol.*, 31, 3, 502-518 (1972).
- KLUVER, H., BARRERA, E. : A method for the combined staining of cells and fibers in the nervous system. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 12, 400-403 (1953).
- KOBAYASHI, K., VANHOF, M.W. : Visual evoked responses in Rabbit deprived of light for seven months after birth. *Acta Soc. Ophthalmol. Jap.*, 76, 5, 257-259 (1972).
- KOENIG, H., DROZ, B. : Transports axonaux de protéines aux terminaisons nerveuses du ganglion ciliaire du Poulet après injection intraventriculaire cérébrale de leucine-3H. *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 272, 22, 2812-2815 (1971).
- KOHLSCHUTTER, A., HERSCHKOWITZ, N. : Sulfatide synthesis in neurons : a defect in Mice with a hereditary myelination disorder. *Brain Res.* 50, 2, 379-385 (1973).
- KOPRIWA, B.M. : A semi-automatic instrument for the radioautographie coating techniques. *J. Histochem. Cytochem.* 14, 12, 923-928 (1966).
- KOPRIWA, B.M. : The influence of development on the number and appearance of silver grains in electron microscopic radioautography. *J. Histochem. Cytochem.* 15, 501-515 (1967).
- KORTUKOV, E.V. : -en russe- Influence de l'épaisseur d'une préparation biologique sur la sensibilité de l'autoradiographie quand on utilise le tritium comme marqueur. *Arkh. Anat. Gistol. Embriol.* 55, 10, 102-104 (1968).
- KORR, H., SCHULTZE, MAURER, W. : Autoradiographic investigations of glial proliferation in the brain of adult Mice. I - The D.N.A. synthesis phase of neuroglia and endothelial cells. *J. comp. Neurol.* 150, 169-176 (1973).
- KRAUS, W., GIESE, B. : Zur Unterdrückung des Schleiers bei Laugzeitexpositionen von autoradiographischen Strippingfilmen. *Acta histochem. (Jena)* 43, 1, 51-58 (1972).
- KOSTOVIC, I. : The terminal distribution of accessory optic fibers in the Rat. *Brain Res.* 31, 1, 202-206 (1971).
- KRAUS-RUPPERT, R., LAISSUE, J., BURKI, H., ODARTCHENKO, N. : Proliferation and turnover of glial cells in the forebrain of young adult Mice as studied of repeated injections of 3H-thymidine over a prolonged period of time. *J. comp. Neurol.*, 148, 2, 211-216 (1973).
- KREUTZBERG, G.W., SCHUBERT, P., HAZAMA, F. : Glial response to retrograde and anterograde changes in the central nervous system. *VI^e Cong. Int. Neuropath.*, Masson & Cie, Paris, 441-442 (1970).

- KRISS, J.P., SHAW, R.K., EDMUNDS, N.A. : Ninth Symp. in Tracer Methodology Atomlight, 47 (1965).
- KRYSPIN-EXNER, W. : Beiträge zur Morphologie der Glia im Nissl-Bilde. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch* 112, 389-416 (1943).
- KUMAMOTO, T. : Histochemical and fine structural alteration of neuroglia in optic nerve of Rat following enucleation of eye. *Acta anat. (Basel)* 77, 2, 291-309 (1970).
- KUPFER, G., PALMER, B. : Lateral geniculate nucleus : histological and cytochemical changes following afferent denervation and visual deprivation. *Exp. Neurol.* 9, 400-409 (1964).
- LAJTHA, L.G., GILBERT, C.W. : Kinetics of cellular proliferation. *Advanc. biol. med. Phys.* 11, 1-25 (1967).
- LAMPERT, P.W., SCHOCHET, S.S. : Demyelination and remyelination in lead neuropathy. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 27, 527-545 (1968).
- LANGWORTHY, O.R. : The behaviour of pouch young Opossums correlated with the myelinization of tracts in the nervous system. *J. comp. Neurol.* 46, 201-248 (1928).
- LANGWORTHY, O.R. : A correlated study of the development of reflex activity in fetal and young kittens and the myelinization of tracts in the nervous system. *Contr. Embryol. Carneg.Inst.* 20, 114, 127-172 (1929).
- LANGWORTHY, O.R. : Development of behaviour patterns and myelinization of tracts in the nervous system. *Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.)* 28, 1365-1382 (1932).
- LANGWORTHY, O.R. : Development of behaviour patterns and myelinization of the nervous system in the human foetus and infant. *Contr. Embryol. Carneg.Inst.* 24, 1-58 (1933).
- LARRA, F., DROZ, B. : Techniques radioautographiques et leur application à l'étude du renouvellement des constituants cellulaires. *J. Microsc.* 9, 7, 845-880 (1970).
- LASANSKY, A. : Nervous function at the cellular level : glia. *Ann. Rev. Physiol.* 33, 241-256 (1971).
- LASEK, R.J. : Axonal transport of proteins in dorsal root ganglion cells of the growing Cat : a comparison of growing and mature neurons. *Brain Res.* 20, 121-126 (1970).
- LA VAIL, J.H., LA VAIL, M.M. : Retrograde axonal transport in the central nervous system. *Science* 176, 4042, 1416-1417 (1972).
- LEBLOND, C.P., WARREN, K.B. : The use of radioautography in investigating protein synthesis. *Intern. Soc. Cell Biol., Academic Press, New-York*, 4, 348 p. (1965).
- LEBLOND, C.P., KOPRIWA, B.M., MESSIER, B. : Radioautography as a histochemical tool. *1st Intern. Congr. Histochem. Cytochem., R. Wegmann ed.*, 1, (1963).
- LEONARD, C.M. : A method for assessing stages of neural maturation. *Brain Res.* 53, 412-416 (1973).

- LERNER, A.R., MEINKE, D.A., COODSTEIN, D.A. : Membrane associated in the cytoplasm of diploid human lymphocytes. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* 68, 1212 (1971).
- LEWIS, P.D. : A quantitative study of cell proliferation in the subependymal layer of the adult Rat brain. *Exp. Neurol.* 20, 2, 203-207 (1968 a) ; *ibid.* 208-214 (1968 b).
- LEWIS, P.D. : The fate of the subependymal cell in the adult Rat brain, with a note on the origin of microglia. *Brain* 91, 4, 721-736 (1968 c).
- LIISBERG, M.F. : Nissl staining at a pH lower than 2. A nucleic acid staining. *Acta anat. (Basel)*, , suppl. 44, 44, 115 p. (1962).
- LING, E.A., LEBLOND, C.P. : Investigation of glial cells in semithin sections. II : Variation with age in the numbers of the various glial cell types in Rat cortex and corpus callosum. *J. comp. Neurol.* 149, 1, 73-81 (1973).
- LING, E.A., PATERSON, J.A., PRIVAT, A., MORI, S., LEBLOND, C.P. : Investigation of glial cells in semithin sections. I : identification of glial cells in the brain of young Rats. *J. comp. Neurol.* 149, 1, 43-71 (1973).
- LIVINGSTON, R.B., PFENNIGER, K., MOOR, H., AKERT, K. : Specialized paranodal and interparanodal glial-axonal junctions in the peripheral and central nervous system : a freeze-etching study. *Brain Res.* 58, 1-24 (1973).
- LODIN, Z., MARES, V., TRESKA, J., STRIBAL, K. : Studies on the effect of the histological treatment on nervous tissue. III. *Acta histochem. (Jena)* 33, 2, 295-307 (1969).
- LUCAS, D. : Uber die postnatale Entwicklung der Neuroglia im Corpus callosum des Kaninchens. *Z. mikr.-anat. Forsch.* 85, 2, 341-352 (1972).
- LUCAS KEENE, M.F., HEWER, E.E. : Some observations on myelination in the human central nervous system. *J. anat. (Lond.)* 66, 1-13 (1931).
- LUCAS KEENE, M.F., HEWER, E.E. : The development and myelination of the posterior longitudinal bundle in the human. *J. Anat. (Lond.)* 67, 522-536 (1933).
- LUND, R.D. : Synaptic patterns in the superficial layers of the superior colliculus of the Monkey, *Macaca mulatta*. *Exp. Brain Res.* 15, 2, 194-211 (1972).
- LUND, R.D., LUND, J.S. : Development of synaptic patterns in the superior colliculus of the Rat. *Brain Res.* 42, 1, 1-32 (1972).
- LUSE, S.A. : Formation of myelin in the central nervous system of Mice and Rats, as studied with electron microscopy. *J. biophys. biochem. cytol.* 2, 777-784 (1956).
- LYON, G., EVRARD : Communication personnelle (1973).
- McEWEN, B.S., GRAFSTEIN, B. : Fast and slow components in axonal transport of protein. *J. Cell Biol.* 38, 494-508 (1968).
- McEWEN, B.S., FORMAN, D.S., GRAFSTEIN, B. : Components of fast and slow axonal transport in the Goldfish optic nerve. *J. Neurobiol.* 2, 361-377 (1971).

- MACRI, J.J., PEREZ, M., RAMA, F., REBOLLO, M.A. : Mielinización de la vía óptica en la Rata blanca. *An. Fac. Med. Montevideo* 51, 45-49 (1969).
- MALMFORS, T. : Electron microscopic description of the glial cells in the nerves opticus in Mice. *J. Ultrastruct. Res.* 8, 193 (1963).
- MANUELIDIS, L., MANUELIDIS, E. : An autoradiographic study of the proliferation and differentiation of glial cells in vitro. *Acta neuropath. (Berl.)* 18, 193-213 (1971).
- MARALDI, N.M., BIAGINI, G., SIMONI, P., LASCHI, R. : Comparison of a new method with usual methods for preparing monolayers in electron microscopy autoradiography. *Meth. Cell Physiol.* 5, 289-300 (1972).
- MARGOLIS, R.K., HELLER, A., MOORE, R.Y. : Effects of changes in cellular composition following neuronal degeneration on amino-acids in brain. *Brain Res.* 11, 1, 19-31 (1968).
- MARTINEZ, A.J., FRIEDE, R. : Changes in nerve cell bodies during the myelination of their axons. *J. comp. Neurol.* 138, 3, 329-338 (1970).
- MARTY, R. : Developpement post-natal des réponses sensorielles du cortex cérébral chez le Chat et le Lapin. Aspects physiologiques et histologiques. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.* 51, 129-264 (1962).
- MATHESON, D.F. : Some quantitative aspects of myelination of the optic nerve in Rat. *Brain Res.* 24, 2, 257-269 (1970).
- MATHESON, D.F. : Evidence in support of centripetal gradient in myelination in the Rat optic nerve. *Exp. Neurol.* 32, 2, 195-205 (1971).
- MATTHEWS, M.A., DUNCAN, D. : The changes in area and in cell and fiber populations of the tracts in the dorsal white column of the Rat. *Anat. Rec.* 163, 227 (1969).
- MATTHEWS, M.A., DUNCAN, D. : Myelination of the dorsal funiculus of the Rat. A quantitative study. *Anat. Rec.* 166, 346 (1970).
- MATTHEWS, M.A., DUNCAN, D. : A quantitative study of morphological changes accompanying the initiation and progress of myelin production in the dorsal funiculus of the Rat spinal cord. *J. comp. Neurol.* 142, 1, 1-22 (1971).
- MATTHEWS, M.A., KRUGER, L. : Electron microscopy of non-neuronal cellular changes accompanying neural degeneration in thalamic nuclei of the Rabbit. I : Reactive hematogenous and perivascular elements within the basal lamina. II : Reactive elements within the neuropil. *J. comp. Neurol.* 148, 285-312 ; 313-346 (1973).
- MATTHIEU, J.M., WIDMER, S., HERSCHKOWITZ, N. : Biochemical changes in Mouse brain composition during myelination. Jimpy, an anomaly of myelin maturation, biochemical study of myelination phases. *Brain Res.* 55, 2, 391-492 ; *ibid.* 403-412 (1973).
- MAXWELL, D.S., KRUGER, L. : The reactive oligodendrocyte. An electron microscopic study of cerebral cortex following alpha particle irradiation. *Amer. J. Anat.* 118, 437-460 (1966).
- MEPISASCHVILI, I.S. : Proliferation, migration and differentiation of matrix zone cells of lateral ventricles during the postnatal development of Puppies and reparative regeneration. *J. Hirnforsch.* 12, 4-5, 233-239 (1971).

- MERTZ, M. : Bestimmung der Silberkorngrösse in Autoradiogrammen bei Auflicht und Durchlicht. *Histochem.* 17, 2, 128-137 (1969).
- MESSIER, B., LEBLOND, C.P. : Preparation of coated radioautographs by dipping sections in fluid emulsion. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* 96, 7-10 (1957).
- MESSIER, B., LEBLOND, C.P. : Cell proliferation and migration as revealed by radioautography after injection of thymidine H3 into male Rats and Mice. *Amer. J. Anat.* 106, 1-32 (1960).
- MITRA, N.L. : Quantitative analysis of cell types in mammalian neocortex. *J. Anat. (Lond.)* 89, 467-483 (1955).
- MITROVA, E. : Karyometric investigation of glia cells in the cerebellum in the course of myelination. *Z. Mikr.-anat. Forsch.* 77, 2, 304-312 (1967).
- MORI, S. : Light and electron microscopic features and frequencies of the glial cells present in the cerebral cortex of the Rat brain. *Arch. Histol. Jap.* 34, 3, 231-244 (1972).
- MODAK, S.P., LEVER, W.E., UPPULURI, V.R. : Estimation of cell nuclei cut at the surface of tissue sections. *Exp. Cell Res.* 70, 2, 465-468 (1972).
- MORI, S., LEBLOND, C.P. : Identification of microglia in light and electron microscopy. *J. comp. Neurol.* 135, 57-80 (1969 a).
- MORI, S., LEBLOND, C.P. : Electron microscopic features and proliferation of astrocytes in the corpus callosum of the Rat. *J. comp. Neurol.* 137, 2, 197-226 (1969 b).
- MORI, S., LEBLOND, C.P. : Electron microscopic identification of three classes of oligodendrocytes and a preliminary study of their proliferative activity in the corpus callosum of young Rats. *J. comp. Neurol.*, 139, 1, 1-30 (1970).
- MORI, S., HAMA, K. : Cytological features and cell proportions of cerebral oligodendrocytes in the young Rat. *J. Electron Microsc. Jap.* 20, 4, 312-317 (1971).
- MORI, S., YAMAGAMI, S., KAWAKITA, Y. : Thymidine metabolism and deoxyribonucleic acid synthesis in the developing Rat brain. *J. Neurochem.* 17, 7, 835-843 (1970).
- MUGNAINI, E., WALBERG, F. : Ultrastructure of neuroglia. *Ergeb. Anat. Entwickl.-Gesch.* 37, 194-236 (1964).
- NAKAYAMA, K. : Studies on the myelinization of the human optic nerve. *Jap. J. Ophthalmol.*, 11, 3, 132-140 (1967).
- NAOUMENKO, J., FEIGIN, I. : A modification for paraffin sections of the Cajal Gold sublimate stain for astrocytes. *Acta neuropath. (Berl.)* 2, 402-406 (1963).
- NASS, M.K., AFZELIUS, B.A. : The general occurrence of mitochondrial D.N.A. *Exp. Cell Res.* 37, 516-539 (1965).
- NAUTA, W.J.H., GYGAX, P.A. : Silver impregnation of degenerating axons in the central nervous system. 1/ Technic, chemical notes. 2/ A modified technique. *Stain Technol.* 26, 5-11 (1951) ; 29, 91-93 (1954).

- NOETZEL, H., ROX, J. : Autoradiographische Untersuchungen über Zellteilung und Zellentwicklung im Gehirn der erwachsenen Maus und des erwachsenen Rhesusaffen nach Injektion von radioaktiven Thymidin. *Acta neuropath. (Berl.)* 3, 326-342 (1964).
- NOETZEL, H., SIEPMANN, P. : Autoradiographische Untersuchungen am Grosshirn neugeborener Ratten nach Injektion von thymidin H3. Ein Beitrag zur Gliaentwicklung. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* 187, 7, 637-659 (1965).
- NORTON, W.T., PODUSLO, S.E., SUZUKI, K. : Rat brain myelin : compositional changes during development. *First Meeting Intern. Soc. Neurochem. Strasbourg* 161 (1967).
- PALAY, S.L. : An electron microscopical study of neuroglia. In : *Biology of Neuroglia*, ed. W. Windle, Ch. Thomas, Springfield, 24-38 (1958).
- PALAY, S.L. : The role of neuroglia in the organisation of the central nervous system. In : *Nerve as a Tissue* ed. K. Rodahl, New-York, Harper and Row, 3-10 (1966).
- PANNESE, E. : Sulla picnosi fisiologica e sui caratteri del nucleo dei gliociti dell'Uomo. *Sist. nerv.* 10, 124-133 (1958).
- PANNESE, E., FERRANNINI, E. : Nuclear pyknosis in neuroglia cells of normal mammals. *Acta neuropathol. (Berl.)* 8, 309-319 (1967).
- PAOLETTI, C. : Remarques sur l'emploi de traceurs précurseurs du D.N.A. dans l'étude de la cinétique des populations cellulaires. In : *Cinétique de Prolifération cellulaire*, I.N.S.E.R.M., 27-44 (1971).
- PATEL, A.J., BALAZS, R., JOHNSON, A.L. : Effect of undernutrition on cell formation in the Rat brain. *J. Neurochem.* 20, 4, 1151-1165 (1973).
- PATERSON, J.A., PRIVAT, A., LEBLOND, C.P. : Transformation into glial cell of subependymal cells labeled by 3H-thymidine injected into the lateral ventricle of young Rats. *Anat. Rec.* 172, 380 (1972).
- PATERSON, J.A., PRIVAT, A., LING, E.A., LEBLOND, C.P. : Investigation of glial cells in semithin sections. III - Transformation of subependymal cells into glial cells, as shown by radioautography after 3H-thymidine injection into the lateral ventricle of the brain of young Rats. *J. comp. Neurol.* 149, 1, 83-102 (1973).
- PEARSE, A.G. : Histochemistry. Theoretical and applied. 3rd, ed. London : Little, Brown and Co, Boston 1, 759 p. (1968).
- PECCI SAAVEDRA, J., MASCITTI, T.A., VACCAREZZA, O.L. : Lamination of the Cebus lateral geniculate nucleus. An experimental study with silver impregnation methods. *Z. Zellforsch.* 94, 3, 346-351 (1969).
- PECCI SAAVEDRA, J., VACCAREZZA, O.L., MASCITTI, T.A. : Degeneration in the parvocellular portion of the lateral geniculate nucleus of the Cebus Monkey. A light and electron microscope study. *Z. Zellforsch.* 93, 164-181 (1969).
- PECCI SAAVEDRA, J., MASCITTI, T.A., PEREZ LLORET, I.L. : Increased rate of anterograde degeneration in the visual pathway of kittens. *Brain Res.* 50, 2, 265-274 (1973).
- PECCI SAAVEDRA, J., MASCITTI, T.A., VACCAREZZA, O.L., READER, T.A. : Non synaptic ring images in silver impregnated lateral geniculate nucleus. *Brain Res.* 14, 733-738 (1969).

- PECCI SAAVEDRA, J., VACCAREZZA, O.L., READER, T.A., PASQUALINI, E. : Ultrastructural and electrophysiological aspects of denervated synapses in the lateral geniculate nucleus. *Vision Res. Suppl.* 3, 229-238 (1971).
- PELC, S.R. : Turnover of D.N.A. and function. *Nature (Lond.)* 219, 162-163 (1968).
- PENFIELD, W. : Neuroglia : normal and pathological. In : *Cytology and cellular pathology of the nervous system*. Paul H. Hoeber Inc., New York, 2, 421-480 (1932).
- PESSACQ, T.P. : L'astrologie et l'oligodendroglie constituent-elles deux catégories cellulaires indépendantes ou différentes d'imprégnation d'un seul type cellulaire ? *Arch. Anat. micr. Morph. exp.* 53, 169-178 (1964).
- PETERS, A. : The formation and structure of myelin sheaths in the central nervous system. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 8, 431-446 (1960).
- PETERS, A. : Observations on the connexions between myelin sheaths and glial cells in the optic nerves of young Rats. *J. Anat. (Lond.)* 98, 125-134 (1964 a).
- PETERS, A. : Further observations on the structure of myelin sheaths in the central nervous system. *J. Cell Biol.* 20, 281-296 (1964 b).
- PETERS, T. Jr, ASHLEY, C.A. : An artefact in radioautography due to binding of free aminoacids to tissues by fixatives. *J. Cell Biol.* 33, 53-60 (1967).
- PETERS, A., PROSKAUER, C.C. : The ratio between myelin segments and oligodendrocytes in the optic nerve of the adult Rat. *Anat. Rec.* 163, 243 A (1969).
- PETERS, A., PALAY, S., WEBSTER, H. de : The fine structure of the nervous system. The cells and their processes. Hoeber Med. Division Harper, Row Publishers 198 p. (1970).
- PENFIELD, W., CONE, W.V. : Neuroglia and microglia (the metallic methods). In : *Handbook of Microscopical Technique*. Ruth Mollung Jones, ed. Paul B. Hoeber, Inc New York 3rd ed., 399-431 (1950).
- POLAK, M. : Morphological and functional characteristics of the central and peripheral neuroglia (Light Microscopical Observations). *Biology of Neuroglia, Progr. in Brain Res.* 15, 12-34 (1965).
- POTTER, C.G. : Induction of polyploidy by concentrated thymidine. *Exp. Cell Res.* 68, 2, 442-448 (1971).
- POTTER, V.R. : Discussion of availability time of labeled D.N.A. precursors in kinetics of cellular proliferation. F. Stohlman ed., *Gune and Stratton, New-York*, 104 & 116 (1959).
- PRATES-CAMPOS, J.C., HADDAD, A., SAVAIA, H., BRITES, J.P. : A simple device for handling in radioautographic technique. *Ann. Histochem.* 13, 2, 147-153 (1968).
- PRENSKY, W. : Automated image analysis in autoradiography. *Exper. Cell Res.* 68, 2, 388-394 (1971).
- PRIVAT, A. : Sur l'origine des divers types de névroglie chez le Rat. *VI^e Congr. Intern. Neuropath.*, Masson & Cie, Paris, 447-448 (1970a).

- PRIVAT, A. : Origin of immature cells in the corpus callosum. *Anat. Rec.* 166, 364 (1970 b).
- PRIVAT, A., LEBLOND, C.P. : The subependymal layer and neighboring region in the brain of the young Rat. *J. comp. Neurol.* 146, 3, 277-302 (1972).
- PRIVAT, A., ROBAIN, O., MANDEL, P. : Aspects ultrastructuraux du corps calleux chez la Souris Jimpy. *Acta neuropath. (Berl.)*, 21, 282-295 (1972).
- PRZYBYLSKI, R.J. : Principles of quantitative autoradiography. In : *Introduction to quantitative cytochemistry II*, 477 (1970).
- PUJOL, R. : Maturation postnatale du système auditif chez le Chat. Etude fonctionnelle et structurale. Thèse de Doctorat Sci. Nat., Montpellier, 181 p. (1971).
- QUADE, R., HALBHUBER, K.J., STIBENZ, J. : Die Verwendung von Zaponlack-membranen als inertes Intermedium zur Verhinderung positiv-chemographischer Effekte in Emulsionen lichtoptischer Autoradiogramme. *Acta histochem. (Jena)* 38, 2, 270-277 (1970).
- RAINE, C.S., WISNIEWSKI, H., PRINEAS, J. : An ultrastructural study of experimental allergic encephalomyelitis in the peripheral nervous system. *Lab. Invest.* 21, 316-327 (1969).
- RAINE, C.S., PODUSLO, S.E., NORTON, W.T. : The ultrastructure of purified preparation of neurons and glial cells. *Brain Res.* 27, 1, 11-24 (1971).
- RAKIĆ, P. : Neuron-glia relationship during granule cell migration in developing cerebellar cortex. A golgi and electronmicroscopic study in Macacus Rhesus. *J. comp. Neurol.* 141, 3, 283-312 (1971).
- RAMON-MOLINER, E. : A study on neuroglia - the problem of transitional forms. *J. comp. Neurol.* 110, 157-171 (1958).
- RAMÓN y CAJAL, S. : Histologie du S.N. de l'Homme et des vertébrés. (1911-1955).
- RAMÓN y CAJAL, S. : Contribución al conocimiento de la neuroglia del cerebro humano. *Trab. Inst. Cajal Invest. biol.* 11, 255-315 (1913).
- RAMÓN y CAJAL, S. : Degeneration and regeneration of the nervous system (translated and edited by R. MAY), London, Oxford Univ. Press, 2 vols, New-York, Hafner (1959).
- RAMÓN y CAJAL, S., CASTRO de F. : Técnica micrográfica del sistema nervioso. *Tipografía artistica, Madrid*, 409 p. (1933).
- RIBADEAU-DUMAS, J.L., POIRIER, J. : L'astrocyte. *Nouvelle Presse Med.* 1, 16, 1091-1096 (1972 a).
- RIBADEAU-DUMAS, J.L., POIRIER, J. : L'oligodendrocyte. *Nouvelle Presse Med.* 1, 17, 1155-1159 (1972 b).
- ROBACK, H.N., SCHERER, H.J. : Über die feinere Morphologie des frühkindlichen Gehirns unter besonderer Berücksichtigung der Gliaentwicklung. *Virchows Arch. pathol. Anat.* 294, 365-413 (1935).
- ROBAIN, O. : Gliogenèse postnatale chez le Lapin. *J. neurol. Sci.* 11, 445-461 (1970).

- ROBAIN, O., LYON, G. : Communication personnelle (1973).
- ROBERTSON, J.D. : The ultrastructure of adult vertebrate peripheral myelinated nerve fibers in relation to myelinogenesis. *J. bio-physic. biochem. Cytol.* 1, 271-278 (1955).
- ROGERS, A.W. : Techniques of Autoradiography. Elsevier, Amsterdam, 335 p. (1967).
- ROSENBLUTH, J.M. : The fine structure of acoustic ganglia in the Rat. *J. Cell Biol.* 12, 329-358 (1962).
- ROTH, L.J., STUMPF, W.E. : Autoradiography of diffusible substances. Academic Press, 371 p. (1969).
- ROWINSKI, J., ADAMSKI, M., SAWICKI, W. : Quantitative autoradiography of 3H-thymidine labelled nuclei. Reduction of grain count caused by washing in water. *Histochem.* 28, 3, 250-254 (1971).
- RUBINI, J.R., CRONKITE, E.P., BOND, V.P., FLIEDNER, T.M. : The metabolism and fate of tritiated thymidine in man. *J. clin. Invest.* 39, 909-918 (1960).
- RUBINI, J.R., KELLER, S., EISENTRAUT, A., CRONKITE, E.P. : In tritium in the Physical and Biological Sciences. I.A.E.A. II, Vienna, 247 p. (1962).
- SAKLA, F.B. : Postnatal growth of neuroglia cells and blood vessels of the cervical spinal cord of the albino Mouse. *J. comp. Neurol.* 124, 189-209 (1965).
- SAMORAJSKI, T., FRIEDE, R.L. : A quantitative electron microscopic study of myelination in the pyramidal tract of Rat. *J. comp. Neurol.* 134, 323-338 (1968).
- SAMUELS, L.D., KISIELESKI, W.E. : Toxicological studies of tritiated thymidine. *Radiat. Res.* 18, 620-632 (1963).
- SATTLER, C.H. : Über die Markscheidenentwicklung im Tractus opticus, Chiasma und Nervus opticus. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal.* 90, 271-298 (1915).
- SAUER, F.C. : Mitosis in the neural tube. *J. comp. Neurol.* 62, 377-405 ; 63, 13-23 (1935 a et b).
- SAWICKI, W., OSTROWSKI, K., ROWINSKI, J. : Effect of exposure temperature on overall efficiency of autoradiographs and on fogging of emulsion. *Stain Technol.* 43, 1, 35-39 (1968).
- SCHAPER, W., VAN EVEN, P. : Zür Exposition und Entwicklung autoradiographischer Präparate. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 312, 3, 126-128 (1969).
- SCHEIBEL, M.E., SCHEIBEL, A.B. : Neurons and neuroglia cells as seen with the light microscope. In : *Biology of Neuroglia* ed. W.F. Windle, Ch. Thomas, Springfield 5-23 (1958).
- SCHLOTE, W. : How long can degenerating axons in the central nervous system produce reactive changes ? An electron microscopic investigation. *Acta neuropath. (Berl.) Suppl.* V, 40-48 (1971).
- SCHMIDT, W. : Über die postnatale Entwicklung der Neuroglia im Corpus callosum des Menschen. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* 128, 1, 18-27 (1969).

- SCHNEIDER, G., SCHNEIDER, G. : Qualitative und quantitative Untersuchungen über stoffverluste bei formol und Carnoy-Fixierung von menschlichem Hirngewebe. *Acta Histochem. (Jena)* 28, 2, 227-242 (1967).
- SCHONBACH, J., HU, K.H., FRIEDE, R.L. : Cellular and chemical changes during myelination. Histologic, autoradiographic, histochemical and biochemical data on myelination in the pyramidal tract and corpus callosum of Rat. *J. comp. Neurol.*, 134, 1, 21-38 (1968).
- SCHULTZ, R.L. : Macroglial identification in electron micrographs. *J. comp. Neurol.* 122, 281-295 (1964).
- SCHULTZ, R.L., MAYNARD, E.A., PEASE, D.C. : Electron microscopy of neurones and neuroglia of cerebral cortex and corpus callosum. *Amer. J. Anat.* 100, 369-408 (1957).
- SCHULTZE, B. : Autoradiography at the cellular level in Physical techniques in biological research. ed. by A.W. Pollister, Academic Press, III B, 301 p. (1969).
- SCHWARTZ, D. Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. *Editions médicales Flammarion*, 296 p., (1963).
- SEFTON, A.J., SWINBURN, M. : Electrical activity of lateral geniculate nucleus and optic tract of the Rat. *Vision Res.* 4, 315-328 (1964).
- SHERMAN, S.M., SANDERSON, K.J. : Binocular interaction on cells of the dorsal lateral geniculate nucleus of visually deprived Cats. *Brain Res.* 37, 1, 126-131 (1972).
- SHERMAN, S.M., HOFFMANN, K.P., STONE, J. : Loss of a specific cell type from dorsal lateral geniculate nucleus in visually deprived Cats. *J. Neurophysiol.* 35, 4, 532-541 (1972).
- SHERWOOD, N.M., TIMIRAS, P.A. : A stereotaxic atlas of the developing Rat brain. *University California Press*, 209 p. (1970).
- SHIMADA, M. : Cytokinetics and histogenesis of early postnatal Mouse brain as studied by 3 H thymidine autoradiography. *Arch. histol. jap.* 26, 4, 413-437 (1966).
- SIDMAN, R.L., MIALE, I.L., FEDER, N. : Cell proliferation and migration in the primitive ependymal zone ; an autoradiographic study of histogenesis in the nervous system. *Exp. Neurol.* 1, 322-333 (1959 b).
- SIMMONS, R.M.T. : A rapide staining method for myelin sheaths and neurones in paraffin-wax sections (lithium carbonate-haematoxyline and cresyl echt violet or neutral red). *J. med. Labo. Technol.* 25, 3, 223-226 (1968).
- SJÖSTRAND, J. : Proliferative changes in glial cells during nerve regeneration. *Z. Zellforsch.* 68, 481-493 (1965).
- SJÖSTRAND, J. : Morphological changes in glial cells during nerve regeneration. *Acta Physiol. scand.*, Suppl. 270, 67, 19-43 (1966).
- SKATKOV, M.E. : -en russe- Un procédé de traitement en masse du matériel histo auto-radiographique. *Bjull eksper., Biol. Med.* 67, 6, 121-123 (1969).
- SKOFF, R.P., VAUGHN, J.E. : An autoradiographic study of cellular proliferation in degenerating Rat optic nerve. *J. comp. Neurol.* 141, 2, 133-156 (1971).

- SKOUGAARD, M.R., STEWART, P.A. : Comparative effectiveness of intraperitoneal and intramuscular 3H-TDR injection routes in Mice. *Exp. Cell Res.*, 45, 158-166 (1967).
- SMART, I. : The subependymal layer of the Mouse brain and its cell production as shown by radioautography after thymidine H3 injection. *J. comp. Neurol.*, 116, 325-348 (1961).
- SMART, I., LEBLOND, C.P. : Evidence for division and transformations of neuroglia cells in the Mouse brain, as derived from radioautography after injection of thymidine 3H. *J. comp. Neurol.* 116, 349-367 (1961).
- SMART, I.H.M. : Proliferative characteristics of the ependymal layer during the early development of the Mouse diencephalon, as revealed by recording the number, location and plane of cleavage of mitotic figures. *J. Anat. (Lond.)* 113, 1, 109-129 (1972).
- SMITH, B., DUNBAR, R.A. : Mode of action of certain myelin stains. *J. Path. Bact.* 1, 117-121 (1966).
- SOSULA, L., GLOW, P.H. : Increase in number of synapses in the inner plexiform layer of light deprived Rat retinae : quantitative electron microscopy. *J. comp. Neurol.* 141, 4, 427-452 (1971).
- STAROSCIK, R.N., JENKINS, W.H., MENDELSON, M.L. : Availability of tritiated thymidine after intravenous administration. *Nature (Lond.)* 202, 456 (1964).
- STENSAAS, L.J., STENSAAS, S.S. : Astrocytic neuroglial cells, oligodendrocytes and microgliaocytes in the spinal cord of the Toad. I - Light microscopy. II - Electron microscopy. *Z. Zellforsch.* 84, 4, 473-489 ; 86, 2, 184-213 (1968).
- STENWIG, A. : The origin of brain macrophages in traumatic lesions, Wallerian degeneration, and retrograde degeneration. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 31, 696-704 (1972).
- STERLING, P., WICKELGREN, B.G. : Function of the projection from the visual cortex to the superior colliculus. *Brain Behav. Evol.* 3, 1-4, 210-218 (1970).
- STOCKER, E., MULLER, H.A. : Zur chemischen Induktion von Silberkörnern im Stripping Film bei der Orcein-Quetsch Technik. *Histochem.* 11, 2, 167-170 (1967).
- SUMI, S.M. : The extracellular space in the developing Rat brain : its variation with changes in osmolarity of the fixative, method of fixation and maturation. *J. Ultrastruc. Res.* 29, 398-425 (1969).
- TERRY, R.J., ROLAND, A.L., RACE, Jr : Effect of eye enucleation and eyelid closure upon the brain and associated visual structures in the Mouse. *J. exp. Zool.* 150, 165-184 (1962).
- THURSTON, J.M., JOFTES, D.L. : Stains compatible with dipping radioautography. *Stain Technol.* 38, 231-235 (1963).
- TILNEY, F., CASAMAJOR, L. : Myelogeny as applied to the study of behavior. *Arch. Neurol., Psychiat. (Chic.)* 12, 1-66 (1924).
- TORVIK, A., SIDMAN, R.L. : Autoradiographic studies on lipid synthesis in the Mouse brain during postnatal development. *J. Neurochem.* 12, 555-565 (1965).

- TRACHTENBERG, M.C., POLLEN, D.A. : Neuroglia : Biophysical properties and physiologic function. *Science* 167, 1248-1252 (1969).
- TRAURIG, HAROLD, H. : Equipment for simultaneous processing of groups of slides for radioautography. *Stain Technol.* 42, 97-100 (1967).
- TRUMPY, J.H. : Transneuronal degeneration in the pontine nuclei of the Cat. I - Neuronal changes in animals of varying ages. II - The glial proliferation. *Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch.* 44, 1, 7-46 ; 47-70 (1971).
- TUBIANA, M. : La cinétique de prolifération cellulaire. *Séminaire sous l'égide de l'I.N.S.E.R.M. et de l'E.U.R.A.T.O.M.* 401 p. (1971).
- VALENZUELA Y CHACÓN, J. : Neuroglia. *Ed. Marban Madrid I*, 627 p. (1970 a).
- VALENZUELA Y CHACÓN, J. : Sur les connexions des grains du cervelet avec les capillaires et identités du grain de cervelet et de la névroglie. *Acta histochem. (Jena)* 37, 2, 302-322 (1970 b).
- VAUGHN, J.E. : An electron microscopic analysis of gliogenesis in Rat optic nerves. *Z. Zellforsch.* 94, 3, 293-324 (1969).
- VAUGHN, J.E., PETERS, A. : A third neuroglial cell type an electron microscopic study. *J. comp. Neurol.* 133, 2, 269-288 (1968).
- VAUGHN, J.E., PEASE, D.C. : Electron microscopic studies of wallerian degeneration in Rat optic nerves. II - Astrocytes, oligodendrocytes and adventitial cells. *J. comp. Neurol.* 140, 2, 207-226 (1970).
- VAUGHN, J.E., HINDS, P.L., SKOFF, R.P. : Electron microscopic studies of wallerian degeneration in Rats optic nerves. I - The multipotential glia. *J. comp. Neurol.* 140, 2, 175-206 (1970).
- VAUGHN, J.E., PETERS, A. : The morphology and development of neuroglia cells. In : *Cellular aspects of neural growth and differentiation.* ed. Pease D.C., U.C.L.A. *Form in Med. Sci.* 14, 103-141 (1971).
- VAUGHN, J.E., SKOFF, R.P. : Neuroglia in experimentally altered central nervous system. In : *The structure and function of nervous tissue.* ed. BOURNE G.H. V, Structure III 39-70 (1972).
- WAISS, B.C., CURTIS, R.L., ANDERSON, D.F. : A sensitive myelin-sheath stain particularly useful for small mammals and neonatal Cats. *Stain Technol.* 46, 6, 289-295 (1971).
- WAND, M., ZEUTHEN, E., EVANS, E.A. : Decomposition by self radiolysis on specificity as a tracer for D.N.A. synthesis. *Science* 157, 3787, 436-438 (1967).
- WATANABE, I., BINGLE, G. : Dysmyelination in "Quaking" Mouse : electron microscopy study. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 31, 352-369 (1972).
- WEBSTER H. de : The geometry of peripheral myelin sheaths during their formation and growth in Rat sciatic nerve. *J. Cell Biol.*, 48, 2, 348-367 (1971).
- WECHSLER, W., MELLER, M. : Electron microscopy of neuronal and glial differentiation in the developing brain of the Chick. *Progr. Brain Res.*, 26, 93-144 (1967).
- WENDELL-SMITH, C.P. : Effect of light deprivation on the postnatal development of the optic nerve. *Nature (Lond.)* 204, 707 (1964).

- WENDELL-SMITH, C.P. : Some aspects of the neuron-neuroglia relationship. *Proc. Austral. Assoc. Neurol.* 4, 103-111 (1966).
- WENDELL-SMITH, C.P., BLUNT, M.J., BALDWIN, F. : The ultrastructure of the macroglia. *J. Anat. (Lond.)* 98, 481 (1964).
- WENDELL-SMITH, C.P., BLUNT, M.J., BALDWIN, F., PAISLEY, P.B. : Neurone satellite cell relationship. *Nature (Lond.)* 205, 781-782 (1965).
- WENDELL-SMITH, C.P., BLUNT, M.J., BALDWIN, F. : The ultrastructural characterization of macroglial cell types. *J. comp Neurol.* 127, 219-239 (1966).
- WENDER, M., KOZIK, M. : Histochemistry of cerebral white matter in relation to myelination of Mouse brain. *J. Hirnforsch.* 10, 1, 79-88 (1968).
- WESTPHÁL, A. : Über die Markscheidenbildung der Gehirnnerven des Menschen. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.* 29, 474-527 (1897).
- WIESEL, T.N., HUBEL, D.H. : Effects of visual deprivation on morphology of cells in the Cat's lateral geniculate body. *J. Neurophysiol.* 26, 978-993 (1963 a).
- WIESEL, T.N., HUBEL, D.H. : Single-cell responses in striate cortex of kittens deprived of vision in one eye. *J. Neurophysiol.* 26, 1003-1017 (1963 b).
- WIESEL, T.N., HUBEL, D.H. : Comparison of the effects of unilateral and bilateral eye closure on cortical unit responses in Kittens. *J. Neurophysiol.* 28, 1029-1040 (1965 a).
- WIESEL, T.N., HUBEL, D.H. : Extent of recovery from the effects of visual deprivation in Kittens. *J. Neurophysiol.* 28, 1060-1072 (1965 b).
- WINDLE, W.F., FISH, M.W., O'DONNELL, J.E. : Myelogeny of the Cats as related to development of fiber tracts and prenatal behavior patterns. *J. comp. Neurol.* 59, 139-165 (1934).
- WISNIEWSKI, H., MORELL, P. : Quaking Mouse : ultrastructural evidence for arrest of myelinogenesis. *Brain Res.* 29, 1, 63-73 (1971).
- WOLFF, J.R. : Quantitative aspects of astroglia. *VI^e Congr. Intern. Neuropath.*, Masson et Cie, Paris, 327-337 (1970).
- WOLMAN, M. : Problems in myelin research. *Progr. Austral. Assoc. Neurol.* 4, 103-111 (1966).
- WONG-RILEY, M.T.T. : Terminal degeneration and glial reactions in the lateral geniculate nucleus of the Squirrel Monkey after eye removal. *J. comp. Neurol.* 144, 1, 25-59 ; 144, 1, 61-92 (1972).
- WYLIE, C.V., NAKANE, P.K., PIERCE, G.B. : Degree of differentiation in nonproliferating cells of mammary carcinoma. *Differentiation* 1, 1, 11-20 (1973).
- ZAMENHOF, S., GRAUEL, L., Van MARTHENS, E., STILLINGER, R.A. : Quantitative determination of D.N.A. in preserved brains and brain sections. *J. Neurochem.* 19, 1, 61-68 (1971).
- ZEMAN, W., INNES, J.R. : Craigie's neuroanatomy of the Rat. New York Academic Press 230 p. (1963).

- ZIOLO, I. : Myelinization of nerve fibers of Pig spinal cord. *Acta anat.* (Basel) 61, 297-320 (1965).
- YAKOVLEV, P.I., LECOURS, A.R. : The myelogenic cycles of regional maturation of the brain. In : "Regional development of the brain in early life". ed. A. Minkowski Blackwell, Oxford, Davis, 3-70 (1967).
- YINON, U., AUERBACH, E. : Deprivation of pattern vision studied by visual evoked potentials in the Rat cortex. *Exp. Neurol.* 38, 231-251 (1973).

Vu et permis d'imprimer

Montpellier, le

Le Président de l'Université des
Sciences et Techniques du Languedoc,

